

Université de Lille

École Graduée Biologie-Santé de Lille (446)

THÈSE

Présentée par

Claire REGOST

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

Spécialité : Neurosciences

Mécanismes de génération d'une forme tronquée de la protéine Tau impliquée dans la maladie d'Alzheimer : rôle de la réponse intégrée au stress

Soutenue publiquement le 15 décembre 2025 devant le jury composé de :

Président du jury :

M. le Dr Luc BUEE

Directeur de Recherche CNRS, Lille

Rapportrices :

Mme la Dr Marie-Laure PARMENTIER

Directrice de Recherche INSERM, Montpellier

Mme la Pr Karelle LEROY

Professeur, Université Libre de Bruxelles

Examineurs :

M. le Dr Franck MARTIN

Directeur de Recherche CNRS, Strasbourg

M. le Dr Maxime DERISBOURG

Senior Scientist, Londres

Thèse dirigée par :

Mme la Pr Malika HAMDANE

Professeur des Universités, Lille

« Dans la vie, rien n'est à craindre, tout est à comprendre »

Marie Curie (1867-1934), physicienne et chimiste, double lauréate du prix Nobel

Aux patients et à leur famille,

A ma famille,

A mes proches,

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je voudrais remercier les membres de mon jury, la Pr **Karelle LEROY**, la Dr **Marie-Laure PARMENTIER**, le Dr **Franck MARTIN**, le Dr **Maxime DERISBOURG**, la Pr **Malika HAMDANE** et le Dr **Luc BUEE**, pour m'avoir fait l'honneur de participer à l'évaluation de ce travail.

Je remercie tout particulièrement mes deux rapportrices, la Pr **Karelle LEROY** et la Dr **Marie-Laure PARMENTIER**, pour le temps qu'elles ont consacré à la lecture attentive et à l'évaluation de mon manuscrit.

Je souhaite également remercier les membres de mon comité de suivi individuel, le Dr **Franck MARTIN** et le Dr **Jean-Marc TAYMANS**, pour leurs conseils éclairés et leur bienveillance. Vos échanges lors des CSI m'ont permis de prendre confiance en moi et d'avancer sereinement dans cette aventure scientifique.

Je tiens à remercier le Dr **Luc BUEE** de m'avoir accueilli au sein du Centre de Recherche Lille Neurosciences & Cognition, et plus particulièrement dans son équipe « Alzheimer & Tauopathies ». Depuis mon Master 1 jusqu'à la fin de ma thèse, vous m'avez accompagnée avec attention et disponibilité. Merci pour le temps consacré lors de nos nombreuses discussions de projet, qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

Je souhaite adresser mes plus sincères remerciements à ma directrice de thèse, la Pr **Malika HAMDANE**. Merci de m'avoir accueillie dès mon stage de Master 1, puis de m'avoir renouvelé ta confiance pour le Master 2 et enfin pour la thèse. Je te suis profondément reconnaissante pour ton accompagnement constant, ton aide précieuse lors du master et durant la préparation du concours de l'ED, une étape qui n'a pas été de tout repos. Merci pour ta bienveillance, ta disponibilité malgré tes enseignements et pour les nombreuses discussions autour des expériences et des résultats. Ta pédagogie, tes conseils avisés et ton écoute m'ont énormément apporté, tant sur le plan scientifique qu'humain. Je te souhaite une très belle continuation, aussi bien professionnelle que personnelle.

Je voudrais remercier également nos collaborateurs de l'IBMC à Strasbourg : le Dr **Franck MARTIN**, le Dr **Paulo DA COSTA** et le Dr **Antoine PERRET**, pour cette belle collaboration scientifique à la fois stimulante et enrichissante. Merci pour nos échanges constructifs lors des réunions de projet. Un merci particulier pour l'accueil chaleureux lors de mon séjour à Strasbourg, à l'occasion de la thèse d'Antoine.

Je souhaite remercier l'ensemble des docteurs de l'équipe : **Valérie BUEE-SCHERRER**, **Morvane COLIN**, **Sophie HALLIEZ**, **David BLUM**, **Didier VIEAU**, **Vincent HUIN**, **Claire-Marie DHAENENS**, **Susanna SCHRAEN**, **Nicolas SERGEANT** et **Bruno LEFEVBRE**, pour leurs remarques et conseils toujours pertinents, notamment lors des répétitions pour le concours de l'ED.

Je voudrais remercier également les post-docs de l'équipe : **Clément** et **Adriana**. Merci, **Adriana**, pour tes conseils sur la thèse et nos discussions sur l'après-thèse.

Un grand merci également à toutes les personnes sans qui le laboratoire ne fonctionnerait pas aussi bien : **Céline BRAND**, **Nathalie PERRAIS**, **Marion DESMET**, **Jean-Petit TOGBE** et **Sophie LESAGE**. Merci pour votre gentillesse, votre disponibilité et votre réactivité face au moindre souci, mais surtout pour votre bonne humeur quotidienne. Quel plaisir d'arriver le matin et d'être accueilli par un chaleureux « Bonjour Claire ! », de quoi bien commencer la journée ! Un merci tout particulier à **Sophie** et **Nathalie**, pour leur aide face aux petites galères de réservation pour le congrès à Vienne... Quelle aventure !

Je n'oublie pas **Thomas** et **Karim** du service de la laverie pour leur travail indispensable : le labo serait sans dessus-dessous sans vous ; et également **Laifa**. Merci pour votre bonne humeur et votre aide.

Un merci particulier à **Antoine MARCHAND**, avec qui on a débuté le projet ensemble lors de mon Master 2, et toi, ton post-doc. Merci pour ton aide, tes conseils et ta bonne humeur. Grâce à toi, notre bureau est passé du « bureau des Sarah » au désormais célèbre « bureau de la bouffe ». Toujours un gâteau ou de nouveaux bonbons à goûter, pour le plus grand bonheur de tous !

Dans la même continuité, je voudrais remercier l'ensemble du bureau : **Sarah LECLERCQ**, **Espérance PASTOURET**, **Simon THIOU** et **Dimitri KIATKOWSKI**, ainsi que les stagiaires qui ont fait un petit séjour dans ce bureau : **Annaëlle**, **Quentin** (que j'ai eu le plaisir d'encadrer) et **Simon**.

Sarah, tu es là depuis le début de mon aventure au labo. Je suis vraiment heureuse d'avoir fait ta connaissance et d'avoir partagé le bureau avec toi. Merci pour ta bonne humeur, tes conseils, ta motivation et surtout pour toutes les conversations et les fous rires qu'on a eus ensemble. Profite à fond de ton voyage en Nouvelle-Zélande, ça va être génial ! **Espérance**, notre « maman du bureau », merci pour ta bienveillance et toutes tes petites attentions. Grâce à toi, le bureau a été rebaptisé « le bureau de la bouffe et des plantes ». Merci pour tes délicieux petits plats, ton ENORME gâteau d'anniversaire partagé avec tout le monde, tes chips de banane plantain, ramenées spécialement pour moi et tes plantes que tu nous offres (d'ailleurs, j'attends toujours un prénom pour ma petite

fougère !). Et merci à toi, **Simon**, pour ta gentillesse et toutes nos discussions, parfois trèeeeeeeeees longues, notamment des débats philosophiques avec Espérance (n'oublie pas, « le mariage c'est très important ! »).

Je voudrais également remercier l'ensemble des ITA, dont l'aide et le soutien au quotidien sont précieux : **Sabiha EDDARKAOUI**, **Raphaëlle CAILLIEREZ**, **Séverine BEGARD**, **Émilie FAIVRE** et **Brenda LAMMENS**. Même s'ils ne sont plus là, un grand merci également à **Thomas COMPTDAER** et **Sébastien CARRIER** pour leur aide précieuse à mes débuts, surtout pour la qPCR.

Sabiha, merci pour ta gentillesse incroyable et ta bonne humeur constante (je crois bien ne t'avoir jamais vu de mauvaise humeur !). Merci d'avoir toujours répondu à mes innombrables questions et pour ton aide avec les souris malgré toutes les galères rencontrées. On en aura bien ri finalement, mais heureusement que tu étais là. **Raph**, qui est aussi ma co-doctorante, merci pour ton soutien, tes conseils et ton écoute. Bon courage pour la soutenance, tu vas gérer ! Merci également pour ton aide lors de la mise en place de la procédure pour l'arsénite à Biserte ; je remercie également **Anna** et **David Blum** pour leur aide pour la partie *in vivo*.

Merci également à **Sarah**, **Meryem** et **Antonino** de la plateforme de microscopie PLBS. **Sarah**, merci pour ton aide pour faire les réglages avec l'Axiocan ; grâce à toi, j'ai pu obtenir de belles images. **Antonino**, un grand merci pour les quantifs, sans toi cela aurait été vraiment galère ! Merci à l'ensemble de la plateforme pour votre aide, votre bienveillance et votre disponibilité.

Je voudrais également remercier le Dr **Nicolas BEAUVAL** de la plateforme de toxicologie du CBP à Lille, pour les dosages de l'arsenic. Merci pour l'explication de la méthode de dosage, les mises au point et ta disponibilité.

Merci à tous les membres du bureau du fond, de l'équipe de Morvane : **Thomas**, **Marie**, **Camille** et **Rislane**, ainsi qu'à tous les stagiaires qui y sont passés : **Eva**, **Antoine**, **Luna** et **Tatiana**.

Camille, que dire de toi ? Tu es un véritable rayon de soleil qui illumine nos journées. Merci pour ton extrême gentillesse, ta bienveillance et toutes nos petites pauses dans mon bureau. Merci pour toutes tes petites attentions, ta plante, ton collier fait main et pour ta présence toujours douce et réconfortante. Je te souhaite sincèrement tout le bonheur du monde et une belle continuation. Prends bien soin de toi. **Thomas**, même si tu n'es plus là, merci pour ta bonne humeur et tes blagues qui apportent toujours une touche de légèreté dans la journée. **Marie** (la Belge 😊), merci de toujours nous faire rire avec tes blagues (ou tes expressions). Merci pour toute ton aide, ta gentillesse, mais

surtout ton naturel. Ne change surtout pas, tu es extraordinaire tel que tu es, et c'est ce qui fait tout ton charme !

Et enfin, **Rislane**... « ma meuf », « mon binôme », « ma rilou » ou encore « tic & tac » comme on nous appelle. Que dire ? Déjà binôme pour les présentations d'articles en Master (avec nos diapos de compétition sur Canva), puis en TP (qu'est-ce qu'on avait rigolé lors du TP avec les coups de jus dans le coude !). Et ensuite, tu m'as rejointe au labo en M2... et là, c'était fini : on ne s'est plus jamais quittées ! Tu es la première personne que je vais voir quand une manip foire, quand elle marche, quand j'ai une bonne nouvelle, une galère ou juste besoin de papoter. Tu as toujours été là, dans les bons comme dans les mauvais moments. Et que dire de tous nos fous rires... inoubliables ! Merci aussi pour ma petite (pas très petite, on est d'accord) licorne « Réjane » ; j'aurais un petit souvenir de toi à la maison (et oui, Pierrick est ravi 😊). Encore un énorme MERCI pour tout, Rislane, et très bonne continuation pour la suite, tu vas gérer !

Je souhaite également remercier tous mes co-thésards : **Marie, Rislane, Agathe, Violette, Marine, Lisa, Clémence, Giovanni, Simon, Eva** et plus récemment, **Léna, Thibaud et Anne**. Merci également à **Coraille**. Merci à vous tous pour la super bonne ambiance au labo, les repas, les sorties, l'organisation d'Halloween et de Noël, et tous les bons moments partagés. On a vraiment de la chance d'avoir un groupe aussi soudé ; mes journées auraient été bien plus longues (et tristes) sans vous !

Je ne peux pas finir ces remerciements sans évoquer le congrès AD/PD 2025 à Vienne avec **Marie, Rislane** et **Violette**. Ces moments resteront gravés dans ma mémoire ! Alors oui, on a eu quelques galères (notamment une petite amende, mais comme on l'a dit : « *we are not bad people* » et « *we are poor students* »), oui, nous n'étions pas dans un palace 3 étoiles (niveau intimité on repassera mdr) et oui, la météo n'était pas au rdv pendant le week-end mais qu'est-ce qu'on a rigolé ! Entre les soirées jeux de société (dont une un peu mouvementée, hein Marie ?), regarder Coco à 4 dans la lit, les schnitzels, les Apple strudels, le schnaps (n'est-ce pas Violette ?), les « Schnell Schnell », « Achtung ! » ou encore les cours de néerlandais et de danse avec Ridge et Marie, que de souvenirs mémorables. Merci à vous 3 pour ces moments incroyables, et merci aussi à Cédric, Ridge (et Pierrick bien sûr) d'avoir partagé une partie de cette aventure avec nous. C'était très chouette de vivre ces moments tous ensemble. Et bien sûr... le congrès était génial, surtout le super talk du Dr Marie 😊

Je voudrais aussi remercier mes amis du master, ma Soso (alias **Sofia**) et Mimi (alias **Rémi**). **Soso**, je crois que l'on était fait pour se rencontrer ! Merci pour nos petites pauses-café, toujours ressourçantes, et ces moments pleins de rires et de complicité. Et que dire de nos soirées mémorables

à Lille avec Mimi en master ? On en aura bien rigolé ! Ce sont des souvenirs inoubliables. Merci à vous deux pour votre soutien, vos encouragements et, bien sûr, le partage des gossips aha. Bon courage pour la fin de vos thèses, je n'ai aucun doute que vous allez tout déchirer !

Un grand merci à **mes parents**, qui m'ont toujours soutenu, ainsi qu'à **mon frère, mes sœurs, mes beaux-frères et belles-sœurs**, ainsi qu'à **mes neveux et nièces** pour leur soutien et leur amour. Merci à toute ma famille, à mes amis et à mes amis de la musique.

Et enfin, un merci tout particulier à **Pierrick**, mon gros, mon loulou. Merci pour ton soutien sans faille, ta compréhension et ta patience. Merci de toujours croire en moi, de me pousser à donner le meilleur de moi-même et de m'encourager dans tout ce que j'entreprends. Rien de tout cela n'aurait eu la même saveur sans toi <3

Pour finir, je tiens à remercier la **Fondation pour la Recherche Médicale (FRM)** et **l'Agence Nationale de la Recherche (ANR)** pour le financement de ce projet.

Enfin, un immense merci à **toute l'équipe « Alzheimer & Tauopathies »**, ainsi qu'aux autres équipes du centre, pour votre bienveillance, votre aide, vos rires, vos discussions scientifiques (et moins scientifiques). Vous avez tous contribué à rendre ces années inoubliables, tant sur le plan scientifique qu'humain. Merci à chacune et chacun d'entre vous.

RÉSUMÉ

Mots-clés : Tau, troncation, réponse intégrée au stress, traduction alternative, maladie d'Alzheimer

La protéine Tau est un acteur central dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer (MA). Notre laboratoire a identifié un nouveau variant de Tau, tronqué en N-terminal et N-alpha-acétylé, nommé AcMet11-Tau. Ce variant est spécifiquement détecté dans le cerveau de patients atteints de la MA et impliqué dans le développement de la pathologie Tau. Sur la base de plusieurs observations, nous avons formulé l'hypothèse que l'AcMet11-Tau serait produit par un mécanisme de traduction alternative, déclenché dans des conditions de stress pertinentes pour la MA. L'objectif de ce travail était donc de démontrer que le variant AcMet11-Tau résulte d'une traduction alternative induite par la réponse intégrée au stress (ISR), et d'évaluer la pertinence de ce mécanisme dans la pathologie Tau.

Pour cela, l'arsénite de sodium (AS) a été utilisé afin d'induire l'ISR dans deux modèles cellulaires. L'expression d'AcMet11-Tau et l'activation de l'ISR ont été évaluées par Western Blot et Immunocytochimie, à l'aide d'anticorps spécifiques. La traduction de Tau a été analysée par la méthode de Ribopuromycylation combinée à la Proximity Ligation Assay (PLA). *In vivo*, des souris transgéniques de la pathologie Tau, les Thy-Tau 22, ont été exposées de manière chronique à l'AS dans l'eau de boisson pour évaluer son impact sur la production d'AcMet11-Tau, la pathologie Tau et les fonctions cognitives.

Dans les modèles cellulaires, nos résultats montrent que l'exposition à l'AS active bien l'ISR et conduit à la production du variant AcMet11-Tau via un mécanisme de traduction. De plus, chez les souris transgéniques, une exposition chronique à l'AS induit une augmentation du nombre de neurones positifs pour AcMet11-Tau et de certains aspects de la pathologie Tau.

Ce travail démontre pour la première fois qu'un mécanisme de traduction alternative, survenant dans le cadre d'une réponse intégrée au stress, contribue à la génération de formes tronquées de Tau au niveau N-terminal. Plus globalement, ces résultats soulignent l'importance des dérégulations de la traduction de Tau dans la physiopathologie de la MA.

ABSTRACT

Key words: Tau, truncation, integrative stress response, alternative translation, Alzheimer's disease

Tau protein plays a key role in Alzheimer's disease (AD) pathophysiology. Our laboratory has identified a novel N-terminally truncated and N-alpha-acetylated Tau variant, called AcMet11-Tau. This variant is specifically detected in AD brains and is involved in Tau pathology development. A collection of observations led us to the hypothesis that AcMet11-Tau is produced via an alternative translation initiation, under stress conditions relevant to AD. This work aimed to provide evidence that AcMet11-Tau is produced by a translation event under Integrated Stress Response (ISR) and to establish the relevance of such mechanism in Tau pathology.

Sodium arsenite (SA) was used to induce the ISR in two cellular models. AcMet11-Tau production and ISR activation were assessed by Western blot and immunocytochemistry using specific antibodies. Tau translation was analyzed using the ribopuromycylation method combined with Proximity Ligation Assay (PLA). For in vivo experiments, Thy-Tau 22 transgenic mice, a model of Tau pathology, were chronically exposed to SA in drinking water to evaluate its impact on AcMet11-Tau production, Tau pathology, and cognitive deficits.

Our results in cellular models show that SA exposure activates the ISR and leads to the production of AcMet11-Tau via an alternative translation mechanism. Moreover, in transgenic mice, chronic SA exposure also leads to an increase in both AcMet11-Tau positive neurons and Tau pathology.

Our work demonstrates for the first time that an alternative translation event, hereby under an AD-relevant Integrated Stress Response, is involved in the generation of N-terminally truncated Tau species. More broadly, these findings highlight the importance of Tau translation deregulation in the physiopathology of Alzheimer's disease.

COMMUNICATIONS ET FORMATIONS

Communications et participations aux congrès :

- Orale - **Li'N Doc days 2025** – Journée des doctorants organisée par le centre
- Orale - **Li'N Doc days 2024** – Journée des doctorants organisée par le centre (participation à l'organisation de la journée)
- Orale - **Journée André Verbert** (2022, 2023 et 2024) – Colloque des doctorants de Lille
- **1^{ère} Journée d'intégration 2025 pour les doctorants du centre** - Organisation de la journée
- Poster - **AD/PD 2025** à Vienne
- Poster - **24th EURON PhD Days 2024** à Lille
- **EuroTau 2021 et 2023** à Lille

Diffusion de la recherche :

- **Formation à la vulgarisation scientifique** : Transmission des connaissances scientifiques mais pas que !
- Participation à la **Fête de la sciences** et conception des ateliers (2023 et 2024).
- **Déclics** : Cercle FSER, Lycée Thérèse d'Avila (2 ans de suite)

Formations :

- AUEC Formation spécifique destinée aux personnes concevant et réalisant des procédures expérimentales chirurgicales chez : souris, rat, lapin et porc
- AUEC Formation à l'expérimentation animale – Personnel concevant et réalisant des procédures expérimentales
- Formation en microscopie : logiciel IMARIS et Image J / FIDJI
- Formation d'anglais : Practice makes perfect
- Formation « Le leadership au féminin »
- Formation cercle de mentorat
- Formation « Propriété intellectuelle au service des doctorants » et atelier « le brevet comme source d'information technique »
- Formation « gérer efficacement sa documentation avec Zotero »
- MOOC Intégrité scientifique dans les métiers de la recherche
- Coaching via des témoignages de docteurs travaillant en R&D d'entreprise

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	I
RÉSUMÉ	VII
ABSTRACT	VIII
COMMUNICATIONS ET FORMATIONS.....	IX
SOMMAIRE.....	XI
LISTE DES FIGURES	XV
LISTE DES TABLEAUX	XVII
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	XIX
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 : BIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE DE LA PROTEINE TAU.....	3
1 Biologie de Tau : du gène à la protéine.....	3
1.1 De la transcription de gène <i>MAPT</i> à la synthèse de Tau	3
1.2 Structure de la protéine Tau.....	5
1.3 Localisation et fonctions de la protéine Tau	7
1.3.1 Tau : une protéine associée aux microtubules.....	8
1.3.2 Tau : régulation de la plasticité synaptique.....	14
1.3.3 Tau : une protéine nucléaire	14
1.3.4 Tau : une protéine du métabolisme.....	15
2 Physiopathologie de la protéine Tau.....	15
2.1 Les tauopathies : définition, caractéristiques et classification	15
2.1.1 Classification des Tauopathies	16
2.2 La maladie d'Alzheimer : la tauopathie la plus fréquente.....	18
2.2.1 La découverte de la maladie d'Alzheimer	18
2.2.2 Prévalence de la maladie d'Alzheimer.....	18
2.2.3 Facteurs de risque associés à la maladie d'Alzheimer.....	19
2.2.4 Symptomatologie de la maladie d'Alzheimer	21
2.2.5 Diagnostic de la maladie d'Alzheimer.....	22
2.2.6 Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer.....	23
2.2.7 Interaction entre les deux lésions : moteur de la neurodégénérescence.....	28
2.2.8 L'inflammation cérébrale : troisième lésion de la maladie d'Alzheimer ?.....	29
CHAPITRE 2 : LES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DE TAU : IMPLICATION DANS LE PROCESSUS PHYSIOLOGIQUE ET PATHOLOGIQUE	31
1 La phosphorylation de Tau : une modification post-traductionnelle clé	31
1.1 Kinases et phosphatases : régulateurs de la phosphorylation de Tau	32
1.2 La phosphorylation : modulatrice des fonctions physiologiques de Tau	32
1.3 La phosphorylation de Tau : un processus dérégulé dans la maladie d'Alzheimer	33
2 La troncation de Tau : une modification post-traductionnelle émergente.....	35
2.1 Les protéases impliquées dans la troncation de Tau.....	35
2.2 Les formes tronquées de Tau C-terminales, retrouvées dans la maladie d'Alzheimer.....	37
2.3 Les formes tronquées de Tau N-terminales, retrouvées dans la maladie d'Alzheimer	38
2.4 Conséquences de la troncation sur les fonctions de Tau	39

2.4.1	Troncation de Tau et agrégation : gain de fonction toxique.....	39
2.4.2	Troncation de Tau et modulation des modifications post-traductionnelles	41
2.4.3	Troncation de Tau et altération des fonctions synaptiques.....	41
2.4.4	Troncation de Tau et dysfonctionnement mitochondrial	42
2.4.5	Les formes tronquées de Tau : des biomarqueurs potentiels de la maladie d'Alzheimer.....	42
2.4.6	Les formes tronquées de Tau : de nouvelles cibles thérapeutiques ?	43
2.5	Nouvelle forme pathologique de la protéine Tau : AcMet11-Tau.....	44
2.5.1	Découverte du variant AcMet11-Tau	44
2.5.2	Nouvelle modification post-traductionnelle : la N- α -acétylation.....	45
2.5.3	AcMet11-Tau : forme pathologique de Tau	48
2.5.4	AcMet11-Tau : quels sont les mécanismes de génération ?.....	48
CHAPITRE 3 : REGULATION ET DEREGULATION DE LA TRADUCTION : UN LIEN AVEC TAU ET LES MALADIES		
NEURODEGENERATIVES.....		51
1	La Traduction chez les eucaryotes.....	51
1.1	Le ribosome	51
1.2	Initiation de la traduction	52
1.2.1	Initiation canonique.....	52
1.2.2	Initiation de la traduction non-canonique.....	54
1.2.3	Régulation de l'initiation de la traduction par des éléments <i>cis</i> - et <i>trans-régulateurs</i>	55
1.3	Elongation	56
1.4	Terminaison	57
2	Dérégulations de la traduction.....	57
2.1	Rôle clé de l'initiation dans la régulation de la traduction.....	57
2.2	La réponse intégrée au stress.....	58
2.2.1	Activation chronique de la réponse intégrée au stress dans la maladie d'Alzheimer et autres maladies neurodégénératives	61
2.2.2	Modulation pharmacologique de la réponse intégrée au stress	62
2.3	Génération de formes tronquées en N-terminales	63
OBJECTIFS DE LA THÈSE		65
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....		69
1	Culture cellulaire.....	70
1.1	Lignée cellulaire SH-SY5Y/TR-Tau.....	70
1.1.1	Description de la lignée.....	70
1.1.2	Entretien de la lignée	70
1.2	Lignée cellulaire LUHMES	70
1.2.1	Description de la lignée.....	70
1.2.2	Entretien de la lignée	71
1.3	Traitements cellulaires.....	71
2	Les lignées transgéniques de la pathologie Tau.....	72
2.1	Description des lignées	72
2.1.1	La lignée murine Thy-Tau 22	72
2.1.2	La lignée murine Thy-Tau 30	73
2.2	Études comportementales chez les souris Thy-Tau 22.....	74
2.2.1	Open Field.....	74
2.2.2	Le test de mémoire spatiale à court terme : le Y Maze.....	75

2.3	Mise à mort des animaux et prélèvements des tissus chez les souris Thy-Tau 22.....	76
2.4	Dosage de l'arsenic dans le plasma et le cortex des souris Thy-Tau 22.....	77
2.5	Analyses immunologiques des cerveaux murins	77
2.5.1	Coupes des hémisphères au cryostat	77
2.5.2	Immunohistochimie par immunoperoxydase sur coupes flottantes	77
2.5.3	Analyse des images : quantification des immunohistochimies	79
2.5.4	Immunofluorescence sur coupes flottantes.....	79
3	Analyses biochimiques.....	80
3.1	Extraction des protéines totales	80
3.1.1	A partir de cellules.....	80
3.1.2	A partir de tissus cérébraux de souris.....	80
3.2	Western Blot.....	80
3.3	Test ELISA Sandwich 2H2D11	81
4	Analyses immunologiques sur les lignées cellulaires	82
4.1	Immunocytochimie	82
4.2	Proximity Ligation Assay (PLA)	83
5	Analyses transcriptionnelles	84
5.1	Extraction des ARN totaux : à partir de cellules ou d'hippocampes murins.....	84
5.2	Rétrotranscription (RT)	85
5.3	PCR quantitative (qPCR).....	85
6	Analyses statistiques	86
RÉSULTATS ET DISCUSSION		87
CHAPITRE 1 : ÉTUDE DU MECANISME DE GENERATION DU VARIANT AcMet11-TAU DANS DES MODELES		
CELLULAIRES DE REPONSE INTEGREE AU STRESS.		89
1	Étude de la génération du variant AcMet11-Tau dans la lignée stable SH-SY5Y/TR Tau.....	89
1.1	Validation du modèle d'induction de la réponse intégrée au stress ?.....	90
1.2	Le variant AcMet11-Tau est-il généré lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium ?.....	91
1.3	Validation du rôle de la réponse intégrée au stress dans la production d'AcMet11-Tau : utilisation de l'ISRIB.....	93
1.4	Mise en évidence de la génération d'AcMet11-Tau par traduction alternative : utilisation de la puo-PLA.....	96
1.5	Conclusion sur l'étude de la traduction d'AcMet11-Tau dans la lignée stable SH-SY5Y/TR Tau.	98
2	Étude de la génération. du variant AcMet11-Tau à partir du gène endogène dans les cellules LUHMES.....	99
2.1	Mises au point du modèle LUHMES : évaluation de l'expression de Tau	99
2.2	Induction de la réponse intégrée au stress dans le modèle LUHMES ?.....	100
2.3	Le traitement à l'Arsénite de sodium a-t-il un effet sur l'expression de la protéine Tau totale ?	102
2.4	Le variant AcMet11-Tau est-il généré lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules LUHMES ?	103
DISCUSSION DU 1^{ER} CHAPITRE CELLULAIRE : ETUDE DU MECANISME DE GENERATION DU VARIANT AcMet11-TAU DANS DES MODELES CELLULAIRES DE STRESS.....		107
CHAPITRE 2 : ÉTUDE <i>IN VIVO</i> DE L'EFFET D'UN TRAITEMENT A L'ARSENITE DE SODIUM SUR LA GENERATION DU VARIANT AcMet11-TAU ET LE DEVELOPPEMENT DE LA PATHOLOGIE TAU		111
1	Approche expérimentale : le modèle de souris transgéniques Thy-Tau 22.....	112

1.1	Choix de la lignée transgénique Thy-Tau 22.....	112
1.2	Protocole expérimental de l'étude de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium chez les souris Thy-Tau 22.....	114
2	Étude de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium chez les souris Thy-Tau 22.....	115
2.1	Évaluation de la tolérance physiologique au traitement à l'Arsénite de sodium.....	115
2.2	Évaluation comportementale des souris Thy-Tau 22, après 2 mois de traitement à l'arsénite de sodium	116
2.2.1	Analyse de l'anxiété et de l'activité locomotrice : test de l'Open Field	116
2.2.2	Évaluation de la mémoire spatiale à court terme : le labyrinthe en Y	118
2.3	Évaluation comportementale des souris Thy-Tau 22, après 3 mois de traitement à l'arsénite de sodium	120
2.3.1	Analyse de l'anxiété et de l'activité locomotrice : test de l'Open Field	120
2.3.2	Évaluation de la mémoire spatiale à court terme après 3 mois d'Arsénite de sodium : Y Maze	122
2.4	Dosages de l'arsenic dans le plasma et le cortex des souris	124
2.5	Étude biochimique de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la pathologie Tau	126
2.5.1	Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la phosphorylation de Tau	127
2.5.2	Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la phosphorylation anormale de Tau	128
2.5.3	Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur l'expression du variant AcMet11-Tau.....	129
2.5.4	Analyse de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la protéine Tau totale.....	130
2.6	Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la pathologie Tau, par immunohistochimie.....	132
2.6.1	Étude du variant AcMet11-Tau	132
2.6.2	Évaluation de la phosphorylation pathologique de Tau.....	134
2.6.3	Évaluation de la phosphorylation anormale de Tau	135
2.7	Le traitement à l'arsénite de sodium peut-il activer la réponse intégrée au stress dans le cerveau des souris Thy-Tau 22 ?.....	136
2.8	L'injection d'extraits de cerveaux de patients Alzheimer dans le cerveau de souris transgéniques peut-elle activer la réponse intégrée au stress ?	138
DISCUSSION DU 2^{EME} CHAPITRE : ETUDE <i>IN VIVO</i> DE L'EFFET D'UN TRAITEMENT A L'ARSENITE DE SODIUM SUR LA GENERATION DU VARIANT AcMet11-TAU ET LE DEVELOPPEMENT DE LA PATHOLOGIE TAU		140
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....		148
BIBLIOGRAPHIE		150

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Du gène MAPT aux six isoformes protéiques de Tau.	4
Figure 2 Structure de l'isoforme 1N4R de la protéine Tau.	6
Figure 3 Localisation et fonctions de la protéine Tau dans le neurone.	8
Figure 4 Structure et dynamique des microtubules.	9
Figure 5 Stabilisation des microtubules par la protéine Tau.	10
Figure 6 Schéma du transport axonal dans les neurones.	12
Figure 7 Caractéristiques neuropathologiques de certaines tauopathies.	16
Figure 8 Code-barres des tauopathies.	17
Figure 9 Principaux facteurs de risque associés à la maladie d'Alzheimer.	20
Figure 10 Altérations macroscopiques et microscopiques caractéristiques de la maladie d'Alzheimer.	23
Figure 11 Clivage protéolytique de l'APP.	25
Figure 12 Progression spatio-temporelle des dépôts amyloïdes : stades de Thal.	25
Figure 13 Progression spatio-temporelle des dégénérescences neurofibrillaires.	26
Figure 14 Sites de phosphorylation physiologiques et pathologiques de la protéine Tau.	33
Figure 15 Sites de clivage de la protéine Tau.	36
Figure 16 Conséquences de la troncation de Tau sur le démasquage des motifs pro-agrégatifs PHF6 et PHF6*	40
Figure 17 La découverte du variant AcMet11-Tau et son rôle dans le développement de la pathologie Tau.	44
Figure 18 La N- α -acétylation des protéines.	46
Figure 19 Schéma illustrant l'initiation de la traduction canonique.	53
Figure 20 Représentation schématique des mécanismes d'initiation non canoniques de la traduction.	54
Figure 21 Schéma de la réponse intégrée au stress.	59
Figure 22 Représentation schématique de l'Open Field.	75
Figure 23 Représentation schématique du labyrinthe en Y (Y Maze), utilisé pour évaluer la mémoire spatiale à court terme.	76
Figure 24 La réponse intégrée au stress (ISR) est activée lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules SH-SY5Y/TR Tau.	91

Figure 25 Le variant AcMet11-Tau est généré lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules SH-SY5Y TR/Tau.	92
Figure 26 Schéma explicatif du fonctionnement de l'ISRIB, inhibiteur de la réponse intégrée au stress.	94
Figure 27 Inhibition de l'expression d'AcMet11-Tau par l'ISRIB.....	96
Figure 28 Mise en évidence de la traduction d'AcMet11-Tau par puromycylation couplée à la PLA (puro-PLA).	97
Figure 29 Expression de l'ARNm de Tau (MAPT) au cours de la différenciation des cellules LUHMES.	100
Figure 30 La réponse intégrée au stress (ISR) est activée lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules LUHMES et induit une baisse de la traduction générale.	101
Figure 31 Évaluation de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium sur l'expression de Tau dans les cellules LUHMES différenciées.	102
Figure 32 Le variant AcMet11-Tau est généré lors d'une réponse intégrée au stress dans les cellules LUHMES.	103
Figure 33 Co-marquage de l'AcMet11-Tau avec différents anticorps anti-Tau dans les cellules LUHMES.	105
Figure 34 Lignée transgénique Thy-Tau 22 et développement de la pathologie Tau.	113
Figure 35 Protocole expérimental du traitement à l'Arsénite de sodium chez les souris Thy-Tau 22.	114
Figure 36 Suivi du poids et de la consommation d'eau des souris durant le traitement à l'Arsénite de sodium.	115
Figure 37 Évaluation des performances des souris dans l'Open Field après deux mois de traitement à l'Arsénite de sodium.	117
Figure 38 Évaluation de la mémoire spatiale à court terme des souris dans le labyrinthe en Y après deux mois de traitement à l'Arsénite de sodium.	119
Figure 39 Évaluation des performances des souris dans l'Open Field, après trois mois de traitement à l'Arsénite de sodium.....	121
Figure 40 Évaluation de la mémoire spatiale à court terme des souris dans le labyrinthe en Y après trois mois de traitement à l'Arsénite de Sodium.....	123
Figure 41 Concentration d'arsenic dans le cortex et le plasma des souris après traitement à l'Arsénite de sodium.....	125
Figure 42 Évaluation de la phosphorylation anormale de Tau dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.	127

Figure 43 Évaluation de la phosphorylation pathologique de Tau dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.....	128
Figure 44 Analyse par ELISA sandwich de la concentration d'AcMet11-Tau dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.	130
Figure 45 Évaluation de l'expression de la protéine Tau totale dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.	131
Figure 46 Analyse par immunohistochimie de l'expression hippocampique de l'AcMet11-Tau dans les souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement de 3 mois à l'Arsénite de sodium.	133
Figure 47 Analyse par immunohistochimie de l'effet d'un traitement de 3 mois à l'Arsénite de sodium sur la pathologie Tau dans les souris Thy-Tau 22.	134
Figure 48 Analyse par immunohistochimie de l'effet d'un traitement de 3 mois à l'Arsénite de sodium sur la phosphorylation anormale de Tau dans les souris Thy-Tau 22.	135
Figure 49 La réponse intégrée au stress est activée dans le cerveau des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'arsénite de sodium.	137
Figure 52 La réponse intégrée au stress est activée dans les cerveaux des souris Thy-30 injectées avec des extraits de patients atteints de la maladie d'Alzheimer.	139

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Tableau récapitulatif des traitements utilisés sur les lignées cellulaires.	72
Tableau 2 Tableau récapitulatif des principaux anticorps primaires utilisés dans ce projet : immunocytochimie, immunohistochimie, Western Blot et dosage ELISA.	79
Tableau 3 Exemple de calcul pour le comptage des dots / cellules suite à la puro-PLA.	84
Tableau 4 Liste des amorces utilisées en qPCR avec la technologie SYBR Green.	86

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA : Acide aminé	ICC : immunocytochimie
ADN : acide désoxyribonucléique	ISR : Integrated Stress Response
ADNc : ADN complémentaire	ISRIB : integrated stress response inhibitor
ADNg : ADN génomique	LUHMES : Lund Human Mesencephalic Cells
APP : Amyloid Precursor Protein	MA : maladie d'Alzheimer
ARN : acide ribonucléique	MAP : Microtubule-associated protein
ARNm : ARN messager	MAPT : microtubule-associated protein Tau
ARNt : ARN de transfert	Met : méthionine
AS : Arsénite de Sodium	MPT : modifications post-traductionnelles
ATIS : alternative translation initiation site	MTBD : Microtubule Binding Repeat Domains
BHE : barrière hémato-encéphalique	NAT : N-a-acétyltransférase
CA : Corne d'Ammon	PCR : Polymerase Chain Reaction
CHX : cycloheximide	PERK : Protein Kinase-Like Endoplasmic Reticulum Kinase
CMV : cytomégalovirus	PIC : Pre-initiation Complex
DNF : dégénérescence neurofibrillaire	PKR : Protein-Kinase-RNA activated
eIFs : Eukaryotic Initiation Factors	PLA : proximity ligation assay
eEFs : Eukaryotic Elongation Factors	SNC : système nerveux central
GCN2 : General Control Nonderepressible	SNP : système nerveux périphérique
GD : Gyrus Denté	Tau : tubulin-associated unit
GDP : guanosine diphosphate	TC : ternary complex
GEF : facteur d'échange nucléotidique	UTR : untranslated region
GTP : guanosine triphosphate	WB : Western Blot
HRI : Heme-Regulated Inhibitor	

INTRODUCTION

Chapitre 1 : Biologie et physiopathologie de la protéine Tau

La protéine Tau est une protéine neuronale essentielle dont la découverte et la caractérisation ont profondément influencé la compréhension du cytosquelette neuronal et des maladies neurodégénératives (MND). Tau a été identifiée pour la première fois en 1975 par Weingarten et al. comme un facteur essentiel de l'assemblage des microtubules à partir de tubuline purifiée, d'où son nom : Tubulin-Associated Unit (Cleveland et al., 1977c; Weingarten et al., 1975). En 1985, une avancée majeure a été réalisée lorsque Brion et al. ont mis en évidence, grâce à des techniques d'immunohistochimie, la présence de Tau dans les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) des patients atteints de la Maladie d'Alzheimer (MA) (Brion et al., 1985). Ce résultat a été confirmé et précisé par Goedert et al. en 1988, qui ont démontré que Tau est le principal composant des filaments hélicoïdaux appariés (PHF), éléments constitutifs des DNF (Goedert et al., 1988). Ces découvertes ont établi un lien direct entre Tau et les lésions histopathologiques caractéristiques des tauopathies, en particulier la MA.

Depuis, de nombreuses études ont approfondi la compréhension des fonctions physiologiques de Tau, mais également physiopathologiques, notamment avec les modifications post-traductionnelles (phosphorylation, troncation, acétylation...) qui favorisent son agrégation et sa toxicité dans les maladies neurodégénératives (MND).

1 Biologie de Tau : du gène à la protéine

1.1 De la transcription de gène *MAPT* à la synthèse de Tau

La protéine Tau humaine est codée par un unique gène, *MAPT*, pour *Microtubule Associated Protein Tau*, situé sur le bras long du chromosome 17, en position 17q21.31, qui s'étend sur environ 134 kb (Neve et al., 1986). L'ADN complémentaire (ADNc) de Tau a d'abord été isolé à partir d'une banque d'expression de cerveau de souris, puis cloné chez les bovins (Himmler, 1989) et chez l'humain (Goedert et al., 1988, 1989). La séquence de Tau est fortement conservée au cours de l'évolution : 83 % de la séquence exonique de l'isoforme humaine la plus longue est identique à celle de la souris. (Poorkaj et al., 2001).

L'expression de MAPT est prédominante dans le système nerveux central (SNC), en particulier dans les neurones (Avila et al., 2004). Néanmoins, elle n'est pas strictement neuronale : une expression plus faible est aussi retrouvée dans certaines cellules gliales, comme les astrocytes (Ezerskiy et al., 2022) et oligodendrocytes (LoPresti et al., 1995; Seiberlich et al., 2015). Enfin, Tau est également détectée dans certains tissus périphériques tels que le cœur, les reins, les poumons, les muscles et les testicules (Y. Gu et al., 1996; Sigala et al., 2014).

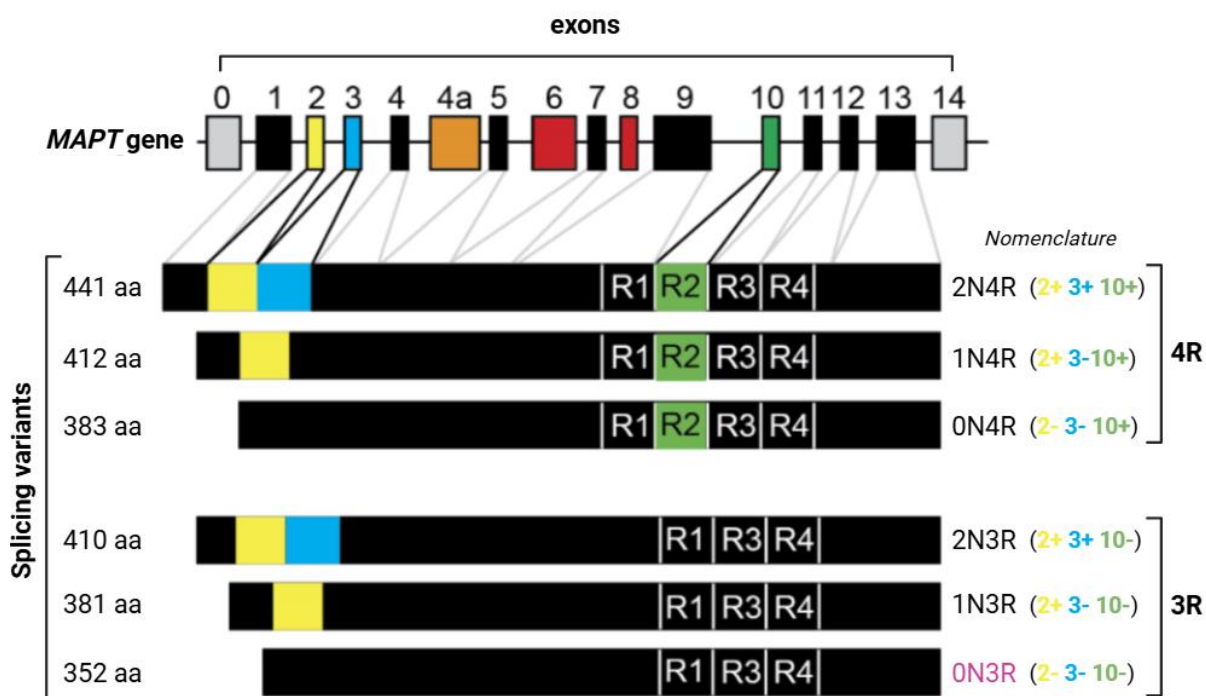


Figure 1 | Du gène MAPT aux six isoformes protéiques de Tau.

Le gène humain codant pour la protéine Tau contient 16 exons numérotés de 0 à 14. En fonction de l'épissage alternatif des exons 2, 3 et 10, six isoformes sont retrouvées dans le cerveau humain adulte, formant deux groupes : les isoformes 4R et les 3R. L'isoforme 0N3R correspond à l'isoforme fœtale, la seule exprimée pendant le développement. Figure adaptée de (Da Costa et al., 2022).

La transcription du gène *MAPT* aboutit à la formation d'un pré-ARNm d'environ 100 kb contenant 16 exons numérotés de 0 à 14 (Andreadis et al., 1992). Les exons 0 et 14, bien que transcrits, ne sont pas traduits et constituent respectivement les régions 5' et 3' UTR (**Figure 1**). Parmi les exons, certains sont constitutifs, tels que les exons 1, 4, 5, 7, 9, 11, 12 et 13, tandis que les exons 2, 3, 4a, 6, 8 et 10 sont alternatifs. En effet, le transcrit primaire est soumis à un épissage alternatif hautement régulé de manière développementale et tissus-spécifique (Andreadis, 2005), pouvant générer théoriquement une grande diversité d'isoformes de Tau (Buchholz & Zempel, 2024). Par exemple,

l'exon 4a est exprimé uniquement dans le système nerveux périphérique (SNP) et la rétine, et conduit à la production d'une isoforme de haut poids moléculaire (100 kDa), appelée « Big Tau » (Couchie et al., 1992; I. Fischer, 2023; Goedert et al., 1992). L'exon 6, rarement inclus dans le SNC, peut entraîner l'expression d'une forme tronquée de Tau dans sa partie C-Terminale, notamment retrouvée dans le cervelet (M.-H. Luo et al., 2004). Ainsi, dans le SNC, les exons 4a et 8 sont exclus, quant à l'exon 6, il est très faiblement exprimé.

Dans le cerveau humain adulte, l'épissage alternatif des exons 2, 3 et 10 donne naissance à 6 isoformes de la protéine Tau, dont la taille varie entre 352 et 441 acides aminés (Andreadis et al., 1992; Buée et al., 2000b). Ces isoformes se distinguent par le nombre de séquences répétées de domaine de liaison aux microtubules (R) et la présence ou l'absence des exons N-terminaux (N). Les isoformes 3R et 4R se distinguent par l'inclusion ou non de l'exon 10. En effet, les isoformes 3R, ne possédant pas l'exon 10, possèdent uniquement trois séquences répétées de liaison aux microtubules, tandis que les 4R, incluant l'exon 10, en possèdent 4. De même, l'isoforme 0N est dépourvue des exons 2 et 3, l'isoforme 1N inclut l'exon 2 et l'isoforme 2N contient à la fois les exons 2 et 3. L'inclusion de l'exon 3 est dépendante de celle de l'exon 2 (Andreadis et al., 1995). Dans le cerveau adulte, il existe un rapport équilibré entre les isoformes 3R et 4R (1 : 1), mais une différence relative pour les isoformes 0N, 1N et 2N (Goedert et al., 1994; Goedert & Jakes, 1990). Alors que les isoformes 1N représentent ≈50 % de toutes les espèces de Tau, les isoformes 0N et 2N ne représentent chacune que 20% (Trabzuni et al., 2012). De plus, durant l'embryogenèse, seule l'isoforme fœtale, 0N3R est exprimée (Goedert et al., 1989).

1.2 Structure de la protéine Tau

La protéine Tau est constituée de plusieurs domaines fonctionnels distincts, définis selon leur composition en acides aminés et leurs interactions avec les microtubules. On distingue principalement quatre régions : le domaine N-terminal (NTR pour *N-terminal Region*), la région riche en proline (PRR pour *Proline Riche Region*), le domaine de liaison aux microtubules (MTBD pour *Microtubule Binding Domain*) et la région carboxy-terminale (C-terminale) (**Figure 2**). (Chinnathambi et al., 2025)

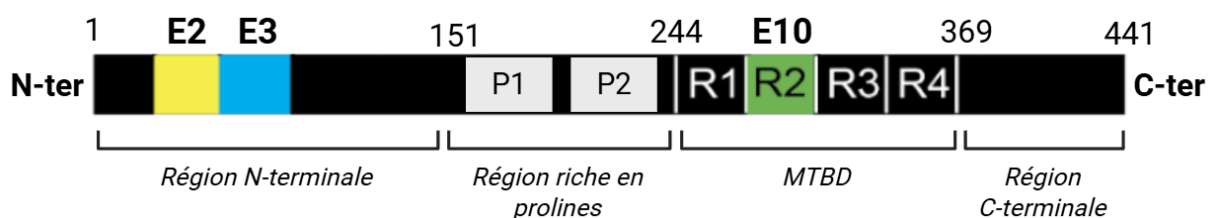


Figure 2 | Structure de l'isoforme 1N4R de la protéine Tau.

La protéine Tau se compose d'une région N-terminale, d'une région riche en prolines (P1, P2), d'un domaine de liaison aux microtubules (MTBD) comprenant trois ou quatre répétitions (R1-R4, l'exon 10 codant pour R2), et d'une région C-terminale.

Le domaine N-terminal de Tau (aa 1-150), essentiellement acide, est encodé par les exons 1, 2, 3, 4, 5 et une partie de l'exon 7. L'inclusion des exons 2 et 3 renforce le caractère acide de cette région, par une présence accrue d'acides glutamiques et aspartiques. Cette région est appelée « domaine de projection », car elle constitue l'extrémité libre de Tau à la surface des microtubules, permettant en se projetant vers le milieu extracellulaire de réguler l'espacement entre les microtubules et le diamètre des axones, mais va également interagir avec d'autres éléments du cytosquelette ou des organelles cellulaires (annexines, protéines associées aux vésicules synaptiques mitochondries). La région riche en prolines (PRR), encodée par l'exon 7 et une partie de l'exon 9 (aa 151 – 243), est caractérisée par une forte proportion de résidus PXXP, ce qui lui confère une rigidité accrue et une charge positive à un pH physiologique. En raison de sa forte densité en résidus sérines et thréonines, ce domaine constitue une cible de nombreuses kinases et phosphatases et de protéines à domaines SH3 (Src Homology 3). Ainsi, cette région joue un rôle central dans la régulation de la phosphorylation de Tau et dans la modulation des interactions entre le NTR et le MTBD. Le domaine de liaison aux microtubules (MTBD), encodé par les exons 9 à 12 (aa 244 – 368), est composé de 3 ou 4 motifs de répétitions de 18 aa (R1, R2, R3 et R4), selon l'inclusion ou non de l'exon 10 (R2). Ces zones de répétitions riches en résidus basiques, interviennent directement dans la liaison de Tau avec les microtubules. Les isoformes 4R, contenant les quatre répétitions, présentent une affinité accrue pour les microtubules, en comparaison avec les isoformes 3R. Et enfin, la partie C-terminale, encodée par l'exon 13 (aa 369 – 441), contribue également à la liaison aux microtubules.

En raison du caractère très hydrophile de la protéine Tau, elle n'adopte pas de structure pliée typique ou de structure tertiaire rigide comme la plupart des protéines cytosoliques microtubules (Mandelkow & Mandelkow, 2012). Des études utilisant des méthodes telles que la Résonance Magnétique nucléaire (RMN) ou la diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) ont montré que la molécule de Tau entière est « dépliée nativement » ou « intrinsèquement désordonnée » (Cleveland

et al., 1977a, 1977b). Elle a cependant tendance à former quelques structures secondaires locales et transitoires comme des structures en hélice alpha, polyproline II dans la région PRR, ou des feuillets bêta dans le domaine de liaison aux microtubules (Mukrasch et al., 2009; Schweers et al., 1994). En effet, les séquences ²⁷⁵VQIINK²⁸⁰ et ³⁰⁶VQIVYK³¹², situées dans les motifs répétés (R2 et R3), sont sujettes à la formation de feuillets beta. (Mukrasch et al., 2005) Il a également été montré que les extrémités N-terminales et C-terminales peuvent interagir pour former une conformation repliée en « trombone », ou en « paperclip » dans laquelle le domaine N-Ter et C-Ter se replient entre eux et masquent les domaines PRR et MTBR (Jeganathan et al., 2006). Cette conformation intramoléculaire limite l'accessibilité des sites de liaison et permet un contrôle fin de l'interaction de Tau avec les microtubules.

1.3 Localisation et fonctions de la protéine Tau

La protéine Tau, initialement décrite comme une protéine du cytosquelette (Weingarten et al., 1975) et longtemps considérée comme une simple protéine associée aux microtubules (MAP), est aujourd'hui reconnue comme une molécule multifonctionnelle présente dans plusieurs compartiments cellulaires (Sotiropoulos et al., 2017). Si son rôle principal a été décrit dans le cytoplasme neuronal, où elle stabilise et régule la dynamique des microtubules, de nombreuses études ont révélé sa présence dans d'autres régions de la cellule, notamment au niveau du noyau, des synapses et des mitochondries (Colin et al., 2020; T. Guo et al., 2017). Cette distribution plurielle reflète la diversité de ses fonctions : soutien du cytosquelette, modulation du transport axonal, régulation de la plasticité synaptique, protection de l'ADN ou encore implication dans la bioénergétique neuronale (**Figure 3**). Loin d'être cantonnée à un rôle structural, Tau apparaît ainsi comme une protéine centrale du fonctionnement neuronal, dont l'altération contribue directement aux processus pathologiques observés dans les tauopathies. Ainsi, dans ce chapitre, les différentes localisations et fonctions associées à tau seront discutées.

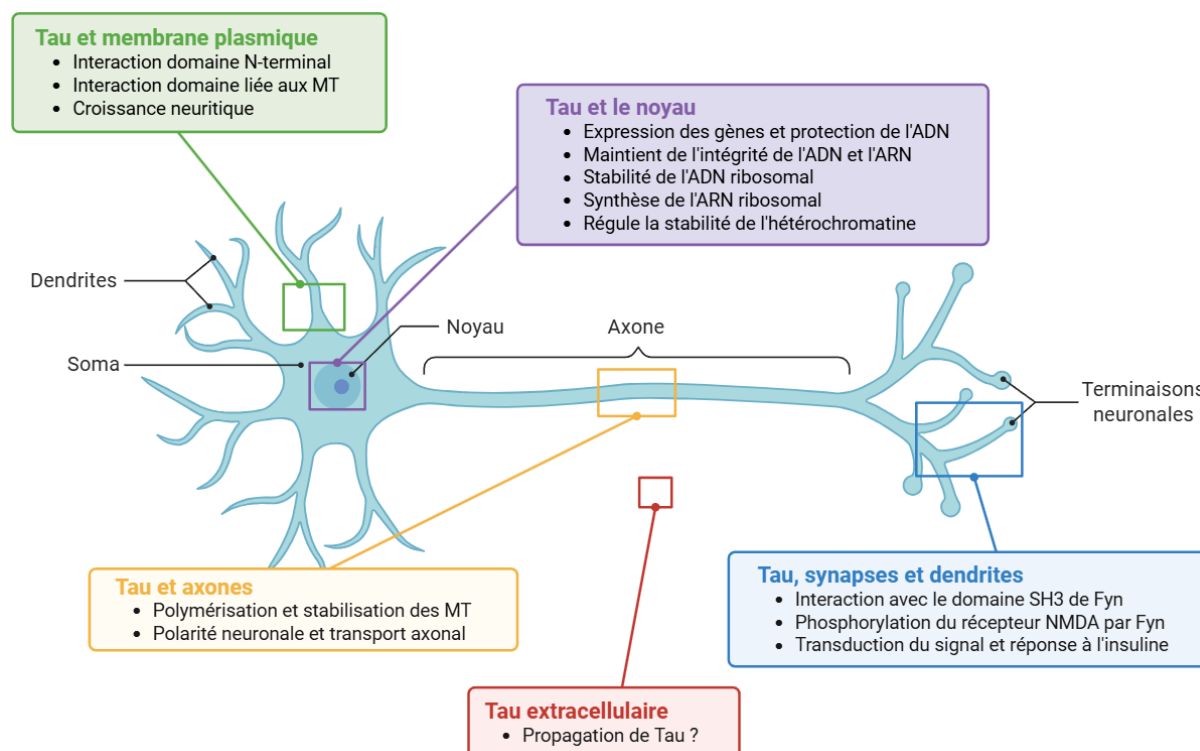


Figure 3 | Localisation et fonctions de la protéine Tau dans le neurone.

Tau interagit avec différents compartiments cellulaires : la membrane plasmique, le noyau, les axones, ainsi que les synapses et les dendrites. Tau peut également être retrouvée dans le milieu extracellulaire, ce qui contribuerait à sa propagation. Figure adaptée de (Colin et al., 2020; Sotiropoulos et al., 2017).

1.3.1 Tau : une protéine associée aux microtubules

1.3.1.1 Régulation de la dynamique microtubulaire

Les microtubules (MT) sont des polymères dynamiques constitués d'hétérodimères de tubuline α et β , organisés en 13 protofilaments pour former un cylindre creux et rigide. Leur organisation repose sur une polarité intrinsèque : l'extrémité « plus » (+) est le site privilégié d'ajout de dimères de tubuline, et donc de polymérisation, tandis que l'extrémité « moins » (-) est le siège de dépolymérisation (**Figure 4**). Cette dynamique repose sur l'hydrolyse du GTP lié à la tubuline : la présence d'une coiffe GTP favorise la croissance lente, tandis que sa perte entraîne une dépolymérisation rapide, appelée catastrophe, suivie parfois d'un retour de la croissance (« rescue »). Ce comportement, défini comme instabilité dynamique, permet de maintenir une longueur globale relativement constante du MT, de 25 nm, mais avec un flux continu de tubuline à travers le polymère (Margolis & Wilson, 1978; Mitchison & Kirschner, 1984).

Ces propriétés dynamiques sont essentielles pour de nombreux processus cellulaires, notamment le maintien de la structure axonale, le transport intracellulaire et la plasticité neuronale (Baas et al., 1991). Elles sont finement régulées par des protéines associées aux microtubules, les MAP dont la protéine Tau (Goodson & Jonasson, 2018).

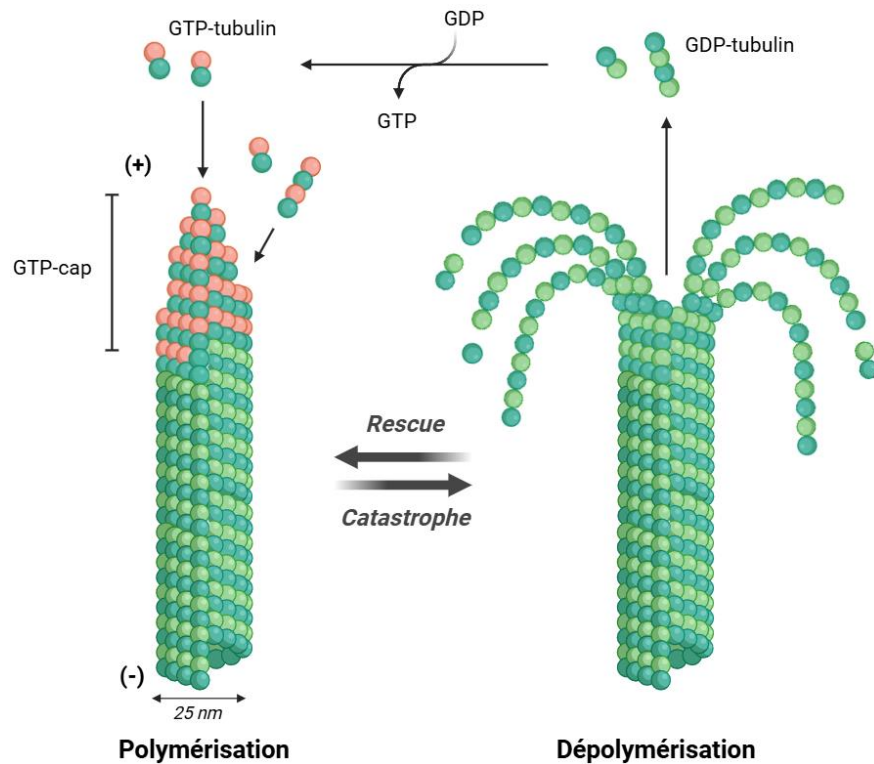


Figure 4 | Structure et dynamique des microtubules.

La tubuline alpha (vert) et la tubuline bêta (bleue) forment des dimères de tubuline qui se polymérisent pour former un protofilament. L'association latérale des protofilaments entraîne la formation d'un microtubule cylindrique, d'une longueur de 25 nm. Le corps du MT est principalement constitué de GDP-tubuline. À l'extrémité positive, les MT en croissance contiennent une partie de GTP-tubuline, qui recouvre la structure et la stabilise contre le désassemblage. Le passage d'une phase de polymérisation à une phase de raccourcissement est défini comme catastrophe, tandis que le passage à une phase de croissance est défini comme « rescue ». Figure adaptée de (Desai & Mitchison, 1997; Venkatramani & Panda, 2019), faite sur Biorender.

La protéine Tau, majoritairement localisée au niveau des axones, va se fixer aux microtubules principalement via son MTBD, situé sur la partie carboxy-terminale de Tau (Butner & Kirschner, 1991). Deux modes d'interaction sont décrits : la liaison longitudinale, où Tau s'associe le long des protofilaments, ce qui va stabiliser leur organisation linéaire, et la liaison latérale, où Tau se fixe entre protofilaments adjacents, contribuant à leur cohésion et au maintien de la structure cylindrique

(Figure 5). Ces deux types d'interactions assurent ensemble la stabilité et la dynamique des MT nécessaires aux fonctions neuronales (Drechsel et al., 1992; Weingarten et al., 1975).

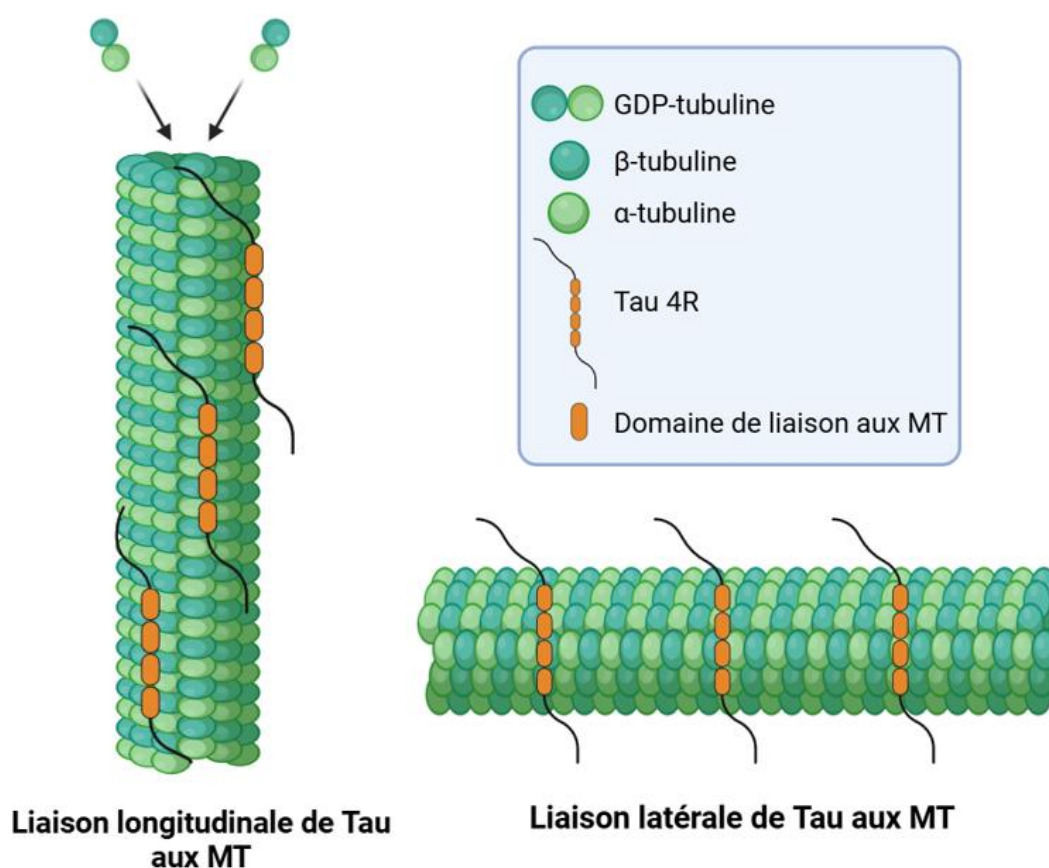


Figure 5 | Stabilisation des microtubules par la protéine Tau.

La Tau 4R est représentée schématiquement en interaction avec le réseau de microtubules via ses domaines de liaison aux MT. (A) Liaison longitudinale aux protofilaments, stabilisant leur organisation linéaire. (B) Liaison latérale, renforçant la cohésion entre protofilaments et le maintien de la structure cylindrique des microtubules. Figure adaptée de (Venkatramani & Panda, 2019), faite sur Biorender.

Il a été montré que Tau est capable d'induire l'assemblage de la tubuline purifiée *in vitro* et de prolonger les phases de pause des microtubules, limitant ainsi leur dépolymérisation (Cleveland et al., 1977a). La protéine Tau a pour effet d'augmenter la vitesse d'élongation des MT et la fréquence des événements de « rescue », pour éviter les phases de « catastrophe ». De plus, outre le MTBD, il a été également montré que la région riche en proline peut interagir avec les microtubules et contribuer à leur stabilité (Goode et al., 1997).

Les différentes isoformes de Tau présentent des propriétés distinctes : les isoformes 4R ont une affinité plus élevée pour la tubuline que les 3R, et stabilisent plus efficacement les microtubules, les protégeant de la dépolymérisation. En revanche, les isoformes 3R exercent un effet stabilisateur

plus faible, ce qui permet de conserver une dynamique microtubulaire plus importante (Goode et al., 2000; Panda et al., 2003). Le maintien d'un équilibre entre 3R et 4R est donc crucial, et un déséquilibre de ce ratio est impliqué dans certaines tauopathies comme par exemple pour les démences frontotemporales (FTDP-17) (D'Souza et al., 1999; Feinstein & Wilson, 2005; Hutton, 2001). L'affinité de Tau pour les microtubules est donc finement régulée par l'épissage alternatif mais également par des modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation, qui en conditions pathologiques réduit son interaction avec les microtubules (Buée et al., 2000a) (cf. chapitre modifications post-traductionnelles).

Chez les mammifères, il existe d'autres protéines associées aux microtubules (MAP) structurales, en plus de la protéine Tau, qui interagissent avec le cytosquelette. Elles sont classées en deux grandes familles : d'une part les MAP de type I avec MAP1A, MAP1B et MAP1S (Halpain & Dehmelt, 2006), de haut poids moléculaire (120 kDa - 350 kDa), dépourvues d'organisation en domaines distincts comme Tau, et exprimées dans les axones (MAP1B), les dendrites (MAP1A et MAP1B) et les cellules gliales (MAP1B), mais également de manière ubiquitaire dans l'organisme (MAP1S) ; d'autre part, les MAP de type II, comprenant la protéine Tau, MAP4 et MAP2 (Dehmelt & Halpain, 2005). La protéine MAP2, localisée préférentiellement dans les dendrites, présente une structure très proche de celle de Tau (Garner & Matus, 1988), avec un domaine de liaison aux microtubules montrant 67 % d'homologie avec celui de Tau (Lewis et al., 1988). Il est intéressant de noter que des modèles murins déficients en Tau restent viables, bien qu'ils présentent une faiblesse musculaire et une hyperactivité (Ikegami et al., 2000). Ce phénomène est probablement dû à l'expression compensatrice des autres MAP dans certains compartiments du cerveau (Dawson et al., 2001). Ainsi, si Tau joue un rôle majeur dans la stabilisation des MT et le maintien de l'intégrité neuronale, elle n'est pas la seule protéine impliquée dans ces fonctions essentielles.

1.3.1.2 Régulation du transport axonal

Le transport axonal est un mécanisme actif indispensable permettant l'acheminement de divers constituants le long des MT, dans les axones des neurones. Les MT jouent le rôle de « rails » sur lesquels des protéines motrices vont déplacer des éléments tels que les mitochondries, lipides, protéines ou encore des vésicules synaptiques. Deux familles principales de protéines motrices assurent ce transport : les kinésines, responsables du transport antérograde vers l'extrémité (+) des MT, donc du corps cellulaire vers les terminaisons axonales, et les dynéines, qui en association avec le complexe protéique dynactine, assurent le transport rétrograde vers l'extrémité (-) des MT, donc vers le soma (Nirschl et al., 2017) (*Figure 6*).

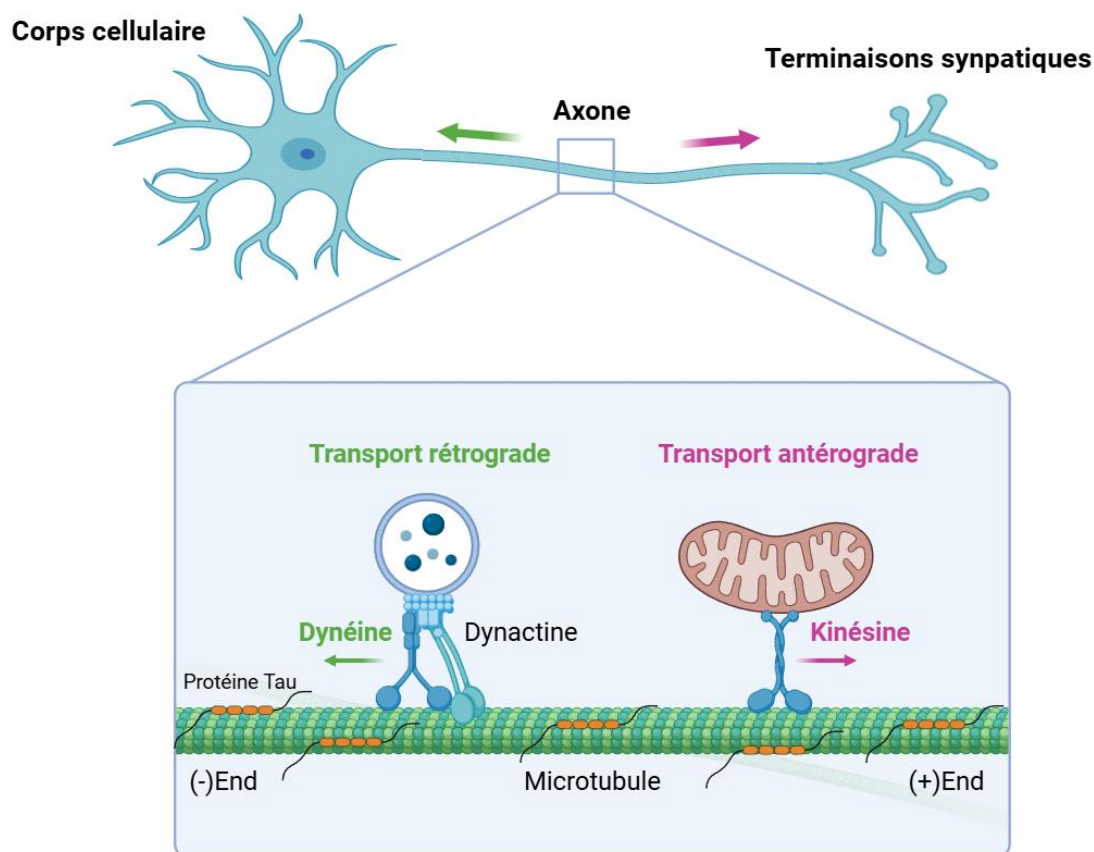


Figure 6 | Schéma du transport axonal dans les neurones.

Le transport antérograde, dirigé vers l'extrémité (+) de l'axone et des terminaisons synaptiques, est assuré par les kinésines, tandis que le transport rétrograde, dirigé vers l'extrémité (-) et le soma, est médié par la dynéine en association avec la dynactine. La protéine Tau, liée aux microtubules, joue un rôle dans la régulation de ces processus. Figure adaptée de (Combs et al., 2019), faite sur Biorender.

Au-delà de leur rôle structural, les MAP, dont la protéine Tau, interviennent dans le transport axonal en modulant l'accessibilité des microtubules aux deux moteurs moléculaires, la dynéine et la kinésine. En effet, dans le cytoplasme neuronal, ces protéines motrices entrent en compétition avec les MAP pour accéder à leur surface. Les MAP, en occupant certains sites, peuvent constituer des obstacles et moduler ainsi le transport de manière spatio-temporelle. Il a été montré que Tau pouvait réguler l'équilibre du transport axonal en ajustant localement l'activité des protéines motrices (Dixit et al., 2008). Dans un neurone sain, Tau est distribuée selon un gradient proximal-distal (Black et al., 1996; Kempf et al., 1996). Sa faible concentration au niveau du soma favoriserait la fixation de la kinésine aux MT et l'initiation du transport antérograde, tandis qu'une accumulation plus importante dans les terminaisons axonales faciliterait le détachement de la kinésine, sans modifier sa vitesse ou

sa direction. Concernant le transport rétrograde, il a été montré que la présence de Tau sur les MT pouvait perturber la progression de la dynéine, allant jusqu'à inverser sa direction (Dixit et al., 2008). Par ailleurs, des modifications dans le domaine N-terminal de projection de Tau influenceraient son interaction avec la dynactine, un composant clé du complexe de la dynéine (Magnani et al., 2007).

L'ensemble de ces observations suggère une implication directe de Tau dans la régulation du transport axonal. Ces résultats vont en lien avec des études *in vivo* qui montrent qu'une surexpression de Tau entraîne des altérations majeures du transport axonal, dans un modèle murin de tauopathies (B. Zhang et al., 2005).

1.3.1.3 Régulation de la neurogénèse adulte et la croissance neuritique

Il a été montré que Tau jouait un rôle clé dans la morphogenèse neuronale et la croissance neuritique. Ce rôle est étroitement lié à l'expression différentielle de ses isoformes au cours du développement. Durant l'embryogenèse, seule l'isoforme fœtale ON3R, dépourvue des deux inserts amino-terminaux et contenant que 3 domaines de liaison aux microtubules, est exprimée dans les neurones. Sa faible affinité pour les MT va faciliter la modulation du cytosquelette et va permettre aux neurones immatures de se développer et de migrer plus facilement (Fuster-Matanzo et al., 2012). Par la suite, l'expression progressive des autres isoformes, notamment les 4R, plus stabilisatrices, accompagne la maturation neuronale et la mise en place des circuits.

Ce rôle de Tau dans le développement neuronal a été confirmé par de nombreuses études expérimentales. Dans des modèles cellulaires comme les PC12 différenciées en cellules neuronales, une corrélation a été établie entre l'expression accrue de Tau, la polymérisation des microtubules et l'allongement des neurites (Drubin et al., 1985; Smith et al., 1995). L'inhibition de l'expression de Tau par des oligonucléotides antisens dans des cultures primaires de cervelet a montré que Tau est indispensable à la formation axonale (Caceres & Kosik, 1990). De même, les neurones issus de souris invalidées pour Tau présentent des prolongements plus courts (Dawson et al., 2001), tandis que sa surexpression dans des lignées de neuroblastome induit l'apparition de neurites supplémentaires (Yoshizaki et al., 2004). Au-delà de son rôle microtubulaire, Tau module également le développement axonal via son domaine de projection en interagissant avec la membrane plasmique (Brandt et al., 1995), et son absence altère la morphologie dendritique (Pallas-Bazarra et al., 2016). Enfin, Tau contribue aussi à la neurogenèse adulte, notamment au niveau du gyrus denté, en influençant la différenciation et l'intégration des nouveaux neurones dans les réseaux hippocampiques (Fuster-Matanzo et al., 2012; Pallas-Bazarra et al., 2016).

1.3.2 Tau : régulation de la plasticité synaptique

Dans un contexte physiologique, Tau est principalement enrichie dans l'axone des neurones (Aronov et al., 2001), mais plusieurs travaux ont également mis en évidence sa présence au niveau des synapses, notamment dans les épines dendritiques (L. M. Ittner et al., 2010; Kimura, Whitcomb, et al., 2014). Des études ont montré que Tau contribue à la régulation de la plasticité synaptique des neurones hippocampiques (Q. Chen et al., 2012). Ce rôle passe par son interaction avec Fyn, une tyrosine kinase de la famille des Src : grâce à son domaine riche en proline (PRR), Tau se lie aux domaines SH3 de Fyn et agit comme un adaptateur, facilitant son adressage vers les dendrites des synapses (L. M. Ittner et al., 2010). Une fois recruté, Fyn phosphoryle la sous-unité NR2B des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate receptor ; NMDAR), ce qui facilite leur couplage avec la protéine postsynaptique PSD-95 et module ainsi l'activité des NMDAR (Mondragón-Rodríguez et al., 2012). Ce mécanisme contribue au maintien d'une transmission synaptique efficace et soutient des processus clés de plasticité, tels que la potentialisation à long terme (LTP). Ainsi, Tau joue également un rôle actif dans la modulation des fonctions synaptiques.

1.3.3 Tau : une protéine nucléaire

Bien que la protéine Tau soit initialement décrite comme une protéine cytosolique associée aux microtubules, plusieurs études ont mis en évidence sa localisation nucléaire dans des cellules neuronales (Loomis et al., 1990; Y. Wang et al., 1993), ainsi que non neuronales (Cross et al., 2000; Thurston et al., 1996). Concernant la nature de la protéine Tau nucléaire, une étude a montré par immunohistochimie et fractionnement subcellulaire que le noyau des neurones de cerveau de souris serait enrichi en isoforme 1N4R, et a montré la présence des isoformes 0N4R et 2N4R également (C. Liu & Götz, 2013). Dans des cellules mitotiques, comme les fibroblastes ou les cellules HeLa, Tau est retrouvée dans le nucléole, et associée aux régions organisatrices nucléolaires, suggérant un rôle dans l'organisation nucléolaire et/ou dans l'hétérochromatisation des gènes d'ARN ribosomiques (ARNr) (Sjöberg et al., 2006).

Plusieurs travaux ont par la suite mis en évidence une fonction de Tau dans la protection du matériel génétique, en particulier de l'ARN et de l'ADN neuronaux (Sultan et al., 2011; Violet et al., 2014, 2015). En effet, Tau interagirait avec le petit sillon de l'ADN par l'intermédiaire de son domaine riche en proline et de son domaine carboxy-terminal (Y. Wei et al., 2008), et protégerait ainsi l'ADN de la dégradation par des DNases ainsi que des altérations provoquées par les radicaux libres, notamment en cas de stress oxydant ou thermique. Des données plus récentes ont renforcé cette idée, montrant que Tau contribue à l'architecture de l'hétérochromatine péricentromérique (PCH) et régule l'expression des ARN longs non codants associés à cette région (Mansuroglu et al., 2016). Tau est

également impliquée dans la transcription et la stabilité de l'ADN ribosomique (ADNr), comme l'ont montré des études sur des cellules issues de patients atteints du syndrome de Bloom (Bou Samra et al., 2017).

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que Tau exerce des fonctions nucléaires importantes, en dehors du compartiment cytosolique, impliquant la protection de l'intégrité génomique, la régulation transcriptionnelle et le maintien de la stabilité chromosomique.

1.3.4 Tau : une protéine du métabolisme

La protéine Tau participe également à la régulation du métabolisme neuronal, en particulier du métabolisme énergétique. Plusieurs travaux ont montré que Tau interagit avec les mitochondries et contrôle leur transport axonal, assurant ainsi une distribution optimale de l'énergie dans les neurones (Y. Cheng & Bai, 2018). Par ailleurs, Tau intervient dans le métabolisme du glucose : son absence ou sa dérégulation induit une résistance neuronale à l'insuline et une altération de l'expression et du trafic des transporteurs de glucose (GLUT), contribuant à l'hypométabolisme glucidique observé dans les maladies neurodégénératives (Gonçalves et al., 2019; Marciniak et al., 2017).

Ainsi, Tau apparaît comme un acteur intégratif reliant la stabilité cytosquelettique aux mécanismes métaboliques, et sa dérégulation crée un cercle vicieux entre déficits énergétiques et neurodégénérescence.

2 Physiopathologie de la protéine Tau

La protéine Tau, essentielle au bon fonctionnement du cerveau, peut devenir pathologique lorsqu'elle perd ses fonctions physiologiques et s'agrège en structures anormales. Ces altérations sont au cœur d'un ensemble de maladies neurodégénératives regroupées sous le terme de tauopathies, parmi lesquelles la maladie d'Alzheimer (MA) constitue l'exemple le plus fréquent. Dans cette partie, seront présentées les principales caractéristiques neuropathologiques de ces maladies, en particulier la MA.

2.1 Les tauopathies : définition, caractéristiques et classification

Les tauopathies constituent un groupe de maladies neurodégénératives (MND) caractérisées par l'agrégation pathologique de la protéine Tau dans le SNC. Ces maladies partagent un certain nombre de points communs, notamment une évolution lente, un déclin cognitif progressif et, dans la plupart des cas, l'apparition de démence. Au niveau histologique, une hétérogénéité existe entre les différentes tauopathies, en fonction de la morphologie des lésions, des régions cérébrales et types

cellulaires touchés (Figure 7). Dans la MA, les agrégats de Tau forment les dégénérescences neurofibrillaires (DNF), formées d'isoformes 3R et 4R, dans les neurones. Dans la dégénérescence cortico-basale (CBD), les agrégats de Tau forment des plaques astrocytaires, formées d'isoformes 4R uniquement, alors que dans la paralysie supranucléaire (PSP), ces agrégats forment des touffes astrocytaires. Dans la maladie de Pick, les isoformes 3R de Tau s'agrègent pour former les corps de Pick, au niveau des neurones granulaires (pour revue, (Götz et al., 2019)).

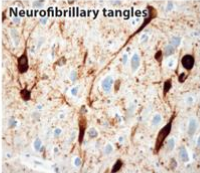
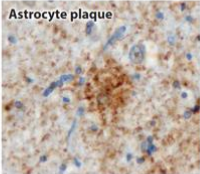
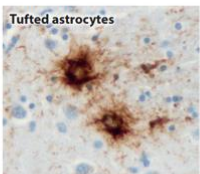
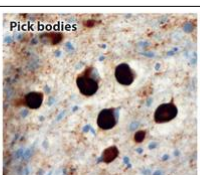
Tauopathies	Lésions histopathologiques
Maladie d'Alzheimer (MA) - Isoformes 3R et 4R - Neurones - Cortex entorhinal, hippocampe, cortex	 Dégénérescences neurofibrillaires (DNF ou NFT)
Dégénérescence cortico-basale (CBD) - Isoformes 4R - Neurones pyramidaux et cellules gliales (astrocytes, oligodendrocytes) - Cortex frontal et pariétal, substance noire	 Plaques astrocytaires
Paralysie supranucléaire progressive (PSP) - Isoformes 4R - Neurones et astrocytes - Cortex frontal, noyaux subthalamiques, noyau de la base	 Touffe astrocytaire
Maladie de Pick - Isoformes 3R - Neurones granulaires - Lobe frontal, temporal et pariétal, hippocampe	 Corps de Pick

Figure 7 | Caractéristiques neuropathologiques de certaines tauopathies.

Les tauopathies sont définies par l'agrégation de la protéine Tau. La figure illustre leur classification selon les isoformes impliquées: 3R/4R (vert), les types cellulaires concernés (orange), les régions cérébrales principalement atteintes (gris), ainsi que la structure et la morphologie des lésions histopathologiques associées (bleue). Figure adaptée de (Creekmore et al., 2024; Götz et al., 2019), fait sur Biorender.

2.1.1 Classification des Tauopathies

La classification des tauopathies reste complexe, mais elles peuvent être distinguées en deux grands types en fonction de la nature des dépôts pathologiques. Les tauopathies primaires regroupent les affections où l'agrégation de Tau, au sein des neurones et des cellules gliales, constitue la principale

signature neuropathologique ; c'est le cas de la dégénérescence lobaire frontotemporale (FTLD), de la paralysie supranucléaire progressive (PSP), de la dégénérescence cortico-basale (CBD) ou encore de la maladie de Pick. Les tauopathies secondaires, en revanche, associent l'agrégation de Tau à d'autres lésions histologiques ; la plus fréquente est la MA, dans laquelle les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) coexistent avec les dépôts amyloïdes.

Il existe également une classification biochimique des tauopathies, appelée le « code-barres des tauopathies », qui repose sur le profil électrophorétique des protéines Tau et de la composition des agrégats en isoformes 3R et/ou 4R (**Figure 8**). Quatre classes sont ainsi distinguées : la classe I, caractérisée par l'agrégation des isoformes 3R et 4R, comme pour la MA, la trisomie 21 et certaines FTLD-17 ; la classe II, dans laquelle seules les isoformes 4R s'accumulent, comme dans la PSP et la CBD ; la classe III, définie par des agrégats exclusivement composés de 3R, typiques de la maladie de Pick ; et enfin la classe IV, plus rare où seule l'isoforme fœtale 0N3R est présente dans les lésions, comme dans les dystrophies myotoniques de type I et II.

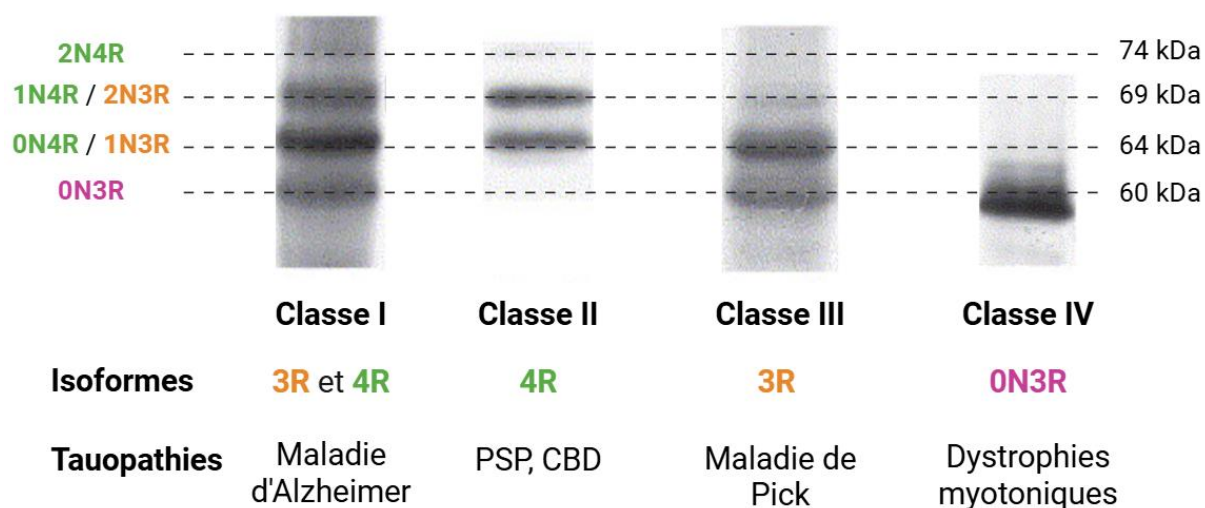


Figure 8 | Code-barres des tauopathies.

Les tauopathies peuvent être classées en quatre groupes selon le profil électrophorétique des isoformes de Tau impliquées : classe I (3R et 4R), classe II (4R), classe III (3R) et classe IV (isoforme fœtale 0N3R). Figure adaptée de (Sergeant et al., 2005), faite sur Biorender.

Ces tauopathies existent sous des formes familiales et sporadiques. Par exemple, certaines FTLD sont liées à des mutations du gène *MAPT*. Ces mutations ont permis de démontrer le rôle direct de Tau dans la neurodégénérescence (Foster et al., 1997). Plus d'une cinquantaine de mutations, principalement situées dans les régions codant pour les domaines de liaison aux microtubules ou régulant l'épissage de l'exon 10, modifient l'équilibre des isoformes 3R/4R et altèrent la fonction de

Tau, soit par perte d'interaction avec les microtubules (Barghorn et al., 2000; Rossi et al., 2012), soit par gain de fonction toxique favorisant l'agrégation (Barghorn et al., 2000; E. Chang et al., 2008). Ces mutations, bien que rares, sont essentielles pour comprendre les mécanismes pathologiques des tauopathies et sont largement exploitées dans le développement de modèles animaux permettant d'étudier l'agrégation de Tau et ses conséquences physiopathologiques. Cependant, les formes familiales de tauopathies sont rares, la grande majorité des cas étant sporadiques, ce qui indique qu'il existe d'autres causes principales de ces maladies, autres que les mutations.

2.2 La maladie d'Alzheimer : la tauopathie la plus fréquente

2.2.1 La découverte de la maladie d'Alzheimer

Au début du XXe siècle, le neuropathologiste et psychiatre allemand Alois Alzheimer fit une découverte déterminante dans l'histoire de la neurologie (*pour revue* (Thakor et al., 2024)). En 1901, il rencontre Auguste Deter, une patiente de 51 ans admise dans un asile psychiatrique, présentant une perte progressive de la mémoire, des troubles du langage, une désorientation, ainsi que des comportements inhabituels tels que soupçons et anxiété (Maurer et al., 1997). Après son décès en 1906, Alzheimer pratique une autopsie du cerveau d'Auguste D et décrit deux lésions jusqu'alors non reconnues : des plaques séniles, aujourd'hui identifiées comme des dépôts extracellulaires de peptides β -amyloïdes, et des enchevêtrements neurofibrillaires, correspondant à des agrégats intracellulaires de protéines Tau anormales. Si ces observations suscitèrent peu d'intérêt immédiat, elles furent reprises quelques années plus tard par le psychiatre Emil Kraepelin, qui donna en 1910 à cette démence le nom de « Maladie d'Alzheimer » (Hippius & Neundörfer, 2003). Par la suite, d'autres cliniciens approfondirent la compréhension des formes précoces et tardives de la maladie, et démontrèrent que les lésions décrites par Alzheimer se retrouvaient aussi chez des sujets âgés, remettant en question la distinction entre démence sénile et démence précoce. Ainsi, en identifiant les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires, Alzheimer a jeté les bases de plus d'un siècle de recherches visant à élucider les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de la maladie d'Alzheimer et des autres tauopathies.

2.2.2 Prévalence de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) représente la cause la plus fréquente de démence, responsable de 60 à 70 % des cas (OMS, 2021). Sa prévalence est fortement corrélée à l'âge : elle touche environ 18,1 % des personnes âgées de plus de 65 ans et 33,2 % des personnes de plus de 85 ans (Alzheimer's Association, 2023). À l'échelle mondiale, on estimait en 2019 à plus de 50 millions le nombre de personnes atteintes de démence, dont la majorité est liée à la MA, avec une projection à 78 millions

en 2030 et 139 millions en 2050 (WHO, 2021). En France, environ un million de personnes vivent actuellement avec la maladie, avec près de 225 000 nouveaux cas chaque année (Santé publique France, 2022). La prévalence de cette maladie est influencée par divers facteurs : le sexe, les femmes étant plus touchées que les hommes (21,1 % de femmes touchées, contre 11,6 % d'hommes aux États-Unis, en 2023) ; les comorbidités cardiovasculaires et métaboliques (hypertension, diabète, obésité) qui augmentent le risque de développer la MA ; mais le facteur de risque majeur est l'âge. Ainsi, la progression de la MA constitue un enjeu majeur de santé publique, accentué par le vieillissement démographique mondial.

2.2.3 Facteurs de risque associés à la maladie d'Alzheimer

2.2.3.1 Facteurs de risque liés à l'environnement et à l'hygiène de vie

Outre le vieillissement, principal facteur de risque de la MA, plusieurs éléments liés à l'environnement et à l'hygiène de vie influencent la probabilité de développer la pathologie (**Figure 9**). Le tabagisme, la pollution atmosphérique (Grande et al., 2020), ainsi que des conditions de stress chronique ou de dépression (Diniz et al., 2013) ont été associés à une augmentation du risque, en partie par des mécanismes inflammatoires et neuroendocriniens, tels que la résistance aux glucocorticoïdes (Arango-Lievano et al., 2016). Des comorbidités métaboliques et cardiovasculaires contribuent également à la vulnérabilité cérébrale : diabète de type 2 et insulino-résistance (L. Ho et al., 2004; Wakabayashi et al., 2019), hypertension artérielle, obésité et maladies cardiovasculaires. De plus, les traumatismes crâniens (TBI, pour *traumatic brain injury*), constituent un facteur de risque reconnu de MA (Nordström & Nordström, 2018), tout comme l'exposition chronique à certains métaux lourds (Ahmed et al., 2025). À l'inverse, plusieurs habitudes de vie apparaissent protectrices : un haut niveau d'éducation, une activité physique régulière, une bonne qualité du sommeil, une alimentation équilibrée, une consommation modérée et régulière de caféine (Flaten et al., 2014) et l'absence d'excès d'alcool. Ainsi, la prise en compte des facteurs environnementaux et du mode de vie constitue une piste majeure de prévention de la MA, soulignant l'importance d'interventions précoces sur des déterminants potentiellement modifiables.

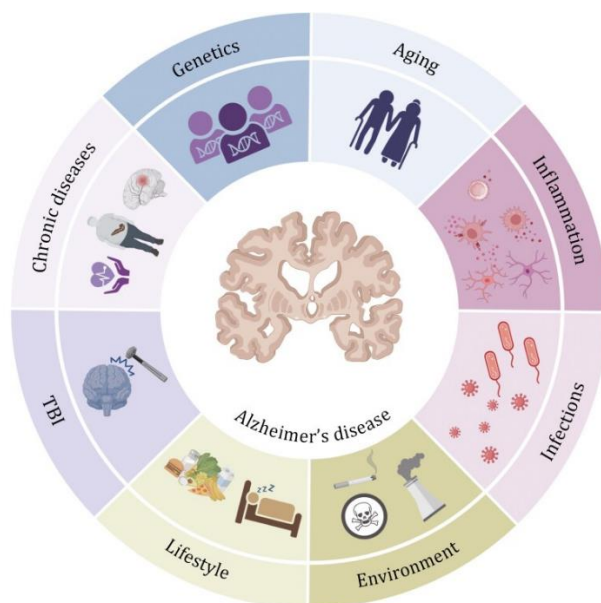


Figure 9 | Principaux facteurs de risque associés à la maladie d'Alzheimer.

Parmi eux figurent la prédisposition génétique, le vieillissement, l'inflammation systémique, les maladies chroniques (diabète de type 2, maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires), les infections et les traumatismes crâniens (TBI). Les habitudes de vie, incluant l'alimentation, l'activité physique, le sommeil, la consommation d'alcool ainsi que les expositions environnementales comme le tabagisme et la pollution, modulent également le risque. (Zheng & Wang, 2025)

2.2.3.2 Facteurs de risques génétiques

Moins de 1% des cas de MA sont d'origine familiale, liés à des mutations autosomiques dominantes des gènes *APP* (*Amyloid precursors protein*) ou des présénilines 1 et 2 (*PSEN 1*, *PSEN2*) (Bertram et al., 2010). Ces mutations entraînent une dérégulation du métabolisme de l'APP et favorisent la production de peptides β -amyloïdes, conduisant au développement précoce de la maladie, souvent avant 65 ans, parfois dès 40-50 ans.

La grande majorité des cas (> 99 %) sont toutefois sporadiques et apparaissent après 65 ans, mais peuvent également être influencés par des prédispositions génétiques, responsables de 58 à 79% des cas de MA (Gatz et al., 2006). Le principal facteur de risque identifié est le gène de l'apolipoprotéine E (*APOE*) (Corder et al., 1993; Peacock et al., 1993). La présence d'un allèle $\epsilon 4$ multiplie par 3 à 4 le risque de développer la MA, tandis que l'homozygotie ($\epsilon 4/\epsilon 4$) l'accroît de 9 à 15 fois (Serrano-Pozo et al., 2021). L'allèle $\epsilon 2$ de l'*APOE*, au contraire, est associé à un effet protecteur. Au-delà d'*APOE*, les études de séquençage génomique (WGS) et d'association pangénomique (GWAS) ont permis d'identifier de nombreux autres loci associés à la MA à début tardif, notamment des gènes liés à

l'immunité, au métabolisme lipidique et au trafic vésiculaire tels que TREM2, BIN1, CLU ou encore CD33 (Guerreiro et al., 2013; Karch et al., 2012). Des méta-analyses ont ensuite élargi cette liste en identifiant d'autres gènes de susceptibilité comme SORL1, INPP5D ou encore FERMT2 (Lambert et al., 2013). Bien que l'importance individuelle de ces variants soit modeste comparée à celle de l'APOE, leur contribution combinée participe de manière significative au risque génétique global.

2.2.4 Symptomatologie de la maladie d'Alzheimer

Généralement, lorsque l'on évoque la MA, on pense essentiellement à la perte de mémoire. Pourtant, si ce symptôme est central, il ne constitue qu'une partie d'un tableau clinique plus large, où d'autres dimensions cognitives et neuropsychiatriques sont progressivement altérées.

2.2.4.1 Le déclin cognitif : une signature clinique de la maladie d'Alzheimer

Le déclin cognitif constitue le noyau clinique de la MA, qui est le plus étudié. Il s'exprime en premier lieu par des troubles de la mémoire épisodique, se traduisant par une difficulté à encoder, stocker et se rappeler des informations ou des événements récents. Ce déficit est souvent le symptôme inaugural et reflète l'atteinte précoce de l'hippocampe et des structures temporales médianes. L'hippocampe joue en effet un rôle central dans la consolidation mnésique, en permettant le transfert des informations de la mémoire à court terme vers la mémoire à long terme, ce qui explique que sa dégénérescence entraîne directement les troubles de mémoire caractéristiques de la MA (Scoville & Milner, 1957). Progressivement, d'autres fonctions cognitives sont atteintes : les fonctions exécutives comme la planification, le raisonnement, la flexibilité cognitive et la prise de décision seront altérées, entraînant des difficultés à organiser des tâches quotidiennes ou à résoudre des problèmes simples. Le langage est également perturbé, avec une anomie (difficulté à trouver les mots), des paraphasies et, dans les stades avancés, une aphasie marquée. Les patients présentent également des troubles de l'orientation spatio-temporelle, se perdant dans les environnements familiers ou ayant des difficultés à se repérer dans le temps et l'espace. Les fonctions visuo-constructives et praxiques se dégradent également avec une difficulté à reconnaître des objets ou des visages (agnosie), ou à exécuter des gestes appris malgré une motricité intacte (apraxie). Enfin, les troubles de l'attention et du traitement de l'information contribuent à ralentir la pensée et compliquent la réalisation de tâches complexes.

Ce déclin cognitif, évoluant de façon progressive et irréversible, impacte directement l'autonomie fonctionnelle des patients, au point que la perte d'indépendance dans les activités de la vie quotidienne constitue un critère diagnostique majeur de cette maladie.

2.2.4.2 Les symptômes neuropsychiatriques : au-delà du déclin cognitif

À côté de ce déclin cognitif, la grande majorité des patients présentent également des symptômes neuropsychiatriques au cours de l'évolution de la maladie. Ces manifestations incluent l'apathie, la dépression, l'anxiété, l'agitation, l'agressivité, les hallucinations, les délires et les troubles du sommeil (Lanctôt et al., 2017). Souvent présentes dès les stades précoces, elles sont associées à une progression plus rapide du déclin cognitif, à une mortalité accrue, ainsi qu'à une charge psychologique et physique élevée pour les aidants. Sur le plan physiopathologique, ces symptômes reflètent des perturbations des circuits fronto-limbiques, en lien avec les dépôts amyloïdes et tau, ce qui souligne la nécessité de les prendre en compte dans l'évaluation clinique et la prise en charge thérapeutique (Y. Chen et al., 2021).

2.2.5 Diagnostic de la maladie d'Alzheimer

Le diagnostic de la MA repose sur une approche pluridisciplinaire, combinant l'évaluation clinique, neuropsychologique et biologique. Sur le plan cognitif, des tests standardisés tels que le *Mini-Mental State Exam* (MMSE) permettent d'évaluer les fonctions mnésiques et exécutives, tout en suivant l'évolution des troubles (Ashford et al., 1989). L'imagerie cérébrale (IRM) apporte des informations structurales, en mettant en évidence l'atrophie cortical et hippocampique typique de la maladie, tandis que la tomographie par émission de positons (TEP) permet de visualiser les dépôts amyloïdes et Tau grâce à des traceurs spécifiques. L'analyse du liquide céphalorachidien (LCR) fournit des biomarqueurs robustes, notamment la diminution de l'A β 42 et l'augmentation de Tau totale et phosphorylée (Khan et al., 2020). Toutefois, ces examens, tels que la ponction lombaire, sont invasifs et, surtout, lorsqu'on détecte les altérations biologiques et cognitives, les lésions neuropathologiques sont déjà présentes depuis plusieurs années. Il est donc nécessaire de développer des marqueurs précoces permettant un diagnostic plus en amont et une prise en charge thérapeutique plus efficace. Dans cette perspective, de nouveaux biomarqueurs émergent, notamment à partir du plasma, moins invasifs que le LCR (Pais et al., 2023). Par exemple, la pTau181 plasmatique a montré sa capacité à identifier des individus positifs à l'imagerie amyloïde β -PET, indépendamment du diagnostic clinique, et corrélée avec les dépôts corticaux de Tau mesurés par TEP, suggérant son utilisation comme outil de dépistage de la pathologie Tau associée à la MA (Janelidze et al., 2020; Thijssen et al., 2020). Ces approches moins invasives ouvrent ainsi des perspectives prometteuses pour un diagnostic précoce et accessible.

2.2.6 Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer

À l'échelle macroscopique, la MA se caractérise par une atrophie cérébrale progressive et diffuse (**Figure 10, A et B**). Cette atrophie est particulièrement marquée au niveau de l'hippocampe et des régions entorhinales, structures essentielles à la mémoire et à l'apprentissage. Ces deux régions, localisées dans le lobe temporal médian, sont les premières touchées, puis cette atrophie se propage vers le reste du lobe temporal et le lobe frontal (Braak & Braak, 1991; Migliaccio et al., 2015). La perte neuronale et la réduction de la densité synaptique entraînent un amincissement cortical et une dilatation des ventricules cérébraux (Terry, 2000). Ces altérations structurales reflètent la dégénérescence neuronale sous-jacente et peuvent être mises en évidence par IRM ou à l'autopsie post-mortem par examen macroscopique (Migliaccio et al., 2015).

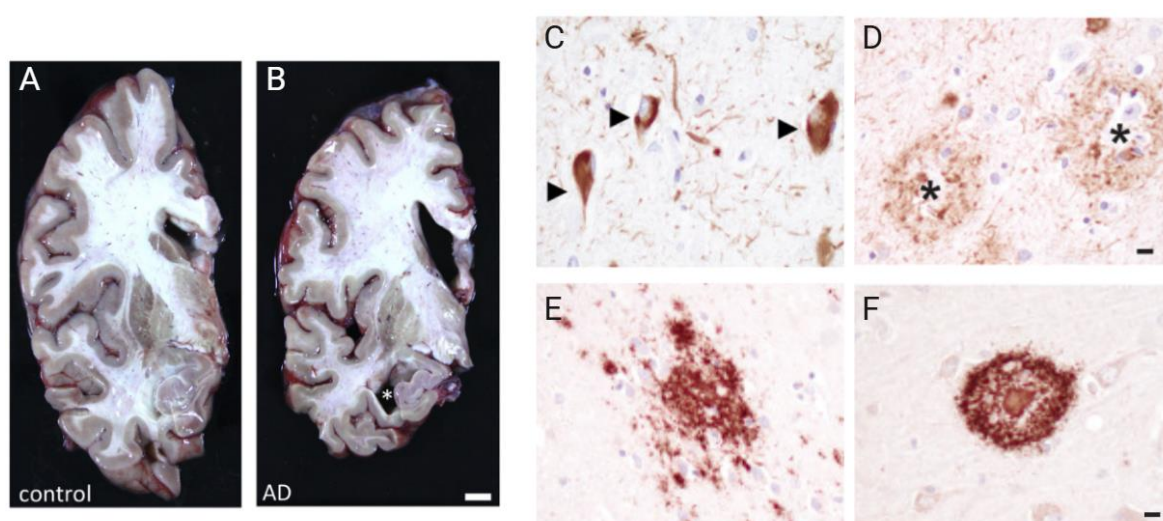


Figure 10 | Altérations macroscopiques et microscopiques caractéristiques de la maladie d'Alzheimer.

(A-B) Coupes coronales : cerveau contrôle (A) vs cerveau atteint de la MA (B), illustrant une atrophie corticale et hippocampique (*). Barre d'échelle = 1 cm. (C-D) Immunohistochimie avec l'anticorps anti-Tau phosphorylée (7F2), mettant en évidence des DNF (flèche noire, C) dans la région CA1 de l'hippocampe, et des plaques neuritiques dans le cortex temporal inférieur (*, D). (E-F) Immunohistochimie anti-A β (Ab5), mettant en évidence une plaque amyloïde diffuse dans le cortex temporal inférieur (E) et une plaque amyloïde compacte dans le cortex frontal (F). Barres d'échelle (C - F) = 10 μ m. Figure adaptée de (Spires-Jones & Hyman, 2014; Trejo-Lopez et al., 2022)

À l'échelle microscopique, deux lésions histopathologiques majeures définissent la MA : les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (**Figure 10 C-D**) et les plaques amyloïdes (**Figure 10, E-F**). Ces dépôts anormaux, respectivement intraneuronaux et extracellulaires, constituent les marqueurs

histopathologiques centraux de la maladie et servent de base au diagnostic neuropathologique. Leur apparition et leur propagation suivent une progression spatio-temporelle caractéristique. Les mécanismes et spécificités de ces deux types de lésions seront développés dans les sections suivantes.

2.2.6.1 Le peptide A β : composant majeur des plaques amyloïdes

Les plaques amyloïdes correspondent à des dépôts extracellulaires de peptides β -amyloïdes, organisés en feuillets β -plissés (Glenner et al., 1984; Glenner & Wong, 1984). Certaines plaques, appelées « plaques neuritiques » ou « plaques séniles », sont entourées par une couronne de neurites dystrophiques, de cellules microgliales et astrogliales réactives (Selkoe et al., 2004). Ces peptides proviennent du clivage anormal de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP, pour *amyloid precursor protein*), une glycoprotéine membranaire de type I, exprimée de manière ubiquitaire. L'APP comporte trois domaines principaux : un segment N-terminal extracellulaire, une partie hydrophobe enchâssée dans la membrane (incluant la séquence A β), et un segment C-terminal intracellulaire (AICD).

Le métabolisme de l'APP est régulé par deux voies distinctes (**Figure 11**). Dans la voie non-amyloïdogène, prédominante en conditions physiologiques, l' α -sécrétase clive l'APP au milieu du domaine A β , empêchant la production de peptides amyloïdes et libérant le fragment soluble sAPP α dans le milieu extracellulaire, connu pour ses propriétés neuroprotectrices (Chasseigneaux & Allinquant, 2012). À l'inverse, la voie amyloïdogène conduit à la formation des peptides A β . Elle implique d'abord le clivage de l'APP par la β -sécrétase, comme BACE1 (β -site APP cleaving enzyme 1) qui va libérer sAPP β dans le milieu extracellulaire et générer le fragment C99. Celui-ci est ensuite clivé par une γ -sécrétase, dont les présénilines 1 et 2 (PSEN1/2) sont les sous-unités catalytiques, produisant des peptides A β de longueurs variables, principalement A β 40 et A β 42 (Bibl et al., 2006, 2007; Selkoe & Hardy, 2016). Parmi eux, A β 42, plus hydrophobe et agrégatif, prédomine dans les dépôts amyloïdes observés dans la MA (Oakley et al., 2006).

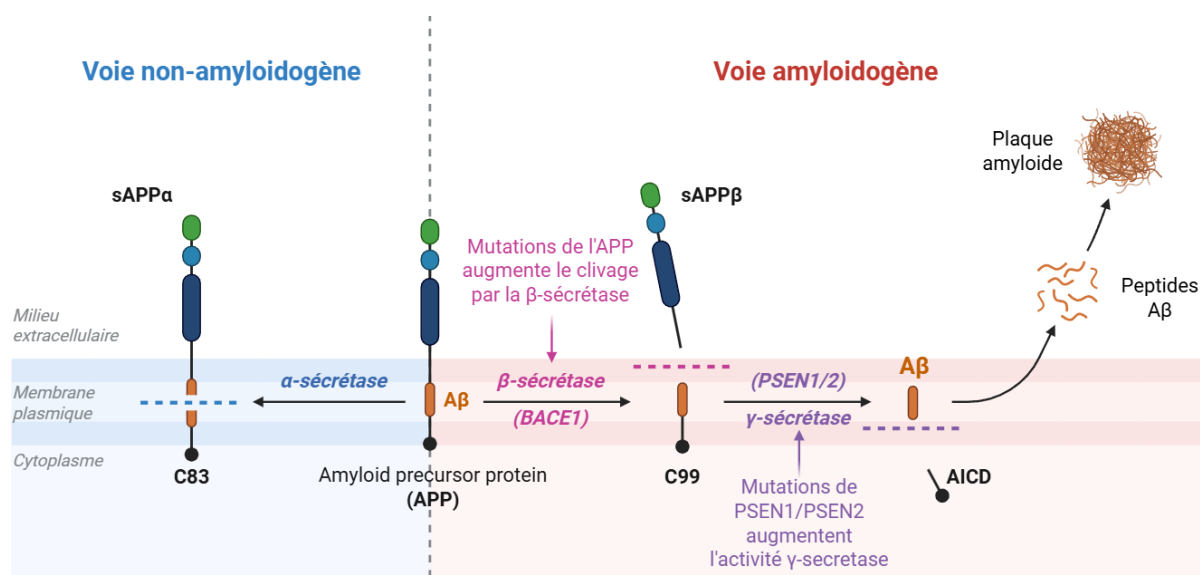


Figure 11 | Clivage protéolytique de l'APP.

Schéma illustrant la voie non-amyloïdogène (gauche), qui empêche la formation de peptides Aβ, et la voie amyloïdogène (droite), responsable de la production des peptides Aβ et de leur agrégation en plaques amyloïdes. Des mutations du gène APP favorisent le clivage par la β-sécrétase (BACE1), tandis que des mutations des présénilines (PSEN1/2) augmentent l'activité de la γ-sécrétase, amplifiant la formation d'Aβ. Figure adaptée de (O'Brien & Wong, 2011), faite sur Biorender.

Un déséquilibre du clivage de l'APP en faveur de la voie amyloïdogène est observé dans la MA, ce qui favorise l'accumulation des peptides Aβ et la formation des plaques amyloïdes. Dans les formes familiales de la MA, des mutations du gène APP peuvent accroître le clivage par BACE1 (Hampel et al., 2021), tandis que des mutations dans les gènes de PSEN1 et 2 augmentent l'activité de la γ-sécrétase, amplifiant ainsi la production de formes toxiques d'Aβ 42 (Oakley et al., 2006).

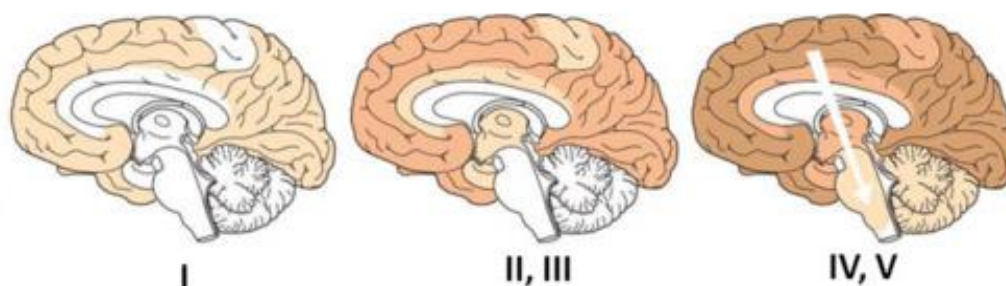


Figure 12 | Progression spatio-temporelle des dépôts amyloïdes : les stades de Thal.

Figure adaptée de (Jouanne et al., 2017).

La distribution des dépôts amyloïdes dans le cerveau suit une progression spatio-temporelle bien décrite par les stades de Thal (**Figure 12**). Elle débute dans le néocortex associatif (stade I), s'étend ensuite à l'aire entorhinale et à l'hippocampe (stades II, III), puis vers les structures sous-corticales, le tronc cérébral et enfin le cervelet (stades IV, V) (Thal et al., 2002). Ces lésions peuvent débuter tôt dans la vie, sans que le patient ne présente de troubles cognitifs, suggérant une longue phase asymptomatique pendant plusieurs décennies (Jack et al., 2010).

2.2.6.2 La protéine Tau : acteur central des dégénérescences neurofibrillaires

Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) constituent la seconde lésion histopathologique majeure de la MA. Les DNF sont constituées de filaments de Tau anormaux, organisés en filaments hélicoïdaux appariés (PHF, pour *paired helical filaments*) et filaments droits (SFs, pour *Straight filaments*), décrits dès les années 1960. Les progrès récents de la cryo-EM ont permis de préciser leur structure, montrant que le cœur des filaments est constitué d'acides aminés 306-378 de Tau, organisés en protofilaments adoptant une architecture en feuillets β/β -hélice qui favorise la nucléation et la croissance fibrillaire. Ces inclusions de Tau perturbent l'architecture cytosquelettique et entraînent une altération de la stabilité des microtubules, compromettant le transport axonal et la viabilité neuronale. L'agrégation de Tau est modulée par un ensemble de facteurs, incluant des modifications post-traductionnelles (MPT) telles que la phosphorylation, la troncation ou encore l'ubiquitination. Par exemple, il a été montré que les agrégats de Tau sont formés de protéines Tau hyper et anormalement phosphorylées, résultant en une perte de fonction de Tau mais également en un gain de fonction toxique. Les MPT de Tau et les conséquences sur la pathologie seront abordés dans le 2^{ème} chapitre.

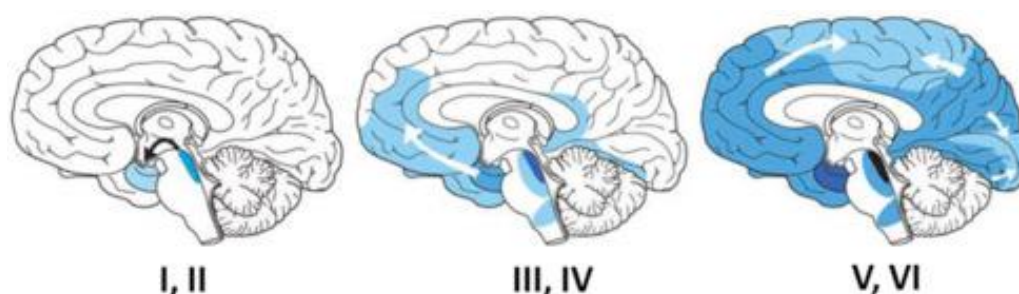


Figure 13 | Progression spatio-temporelle des dégénérescences neurofibrillaires : les stades de Braak.

Figure adaptée de (Jouanne et al., 2017).

La progression spatio-temporelle des dégénérescences neurofibrillaires (DNF) est étroitement corrélée au déclin cognitif et suit un parcours très précis dans le cerveau. En analysant de nombreux cerveaux issus de patients d'âges et de stades pathologiques variés, Braak et collaborateurs ont cartographié la propagation des lésions Tau et défini six stades évolutifs, aujourd'hui connus sous le nom de *stades de Braak* (**Figure 13**). Les premiers dépôts apparaissent dans la région transentorhinale (stade I), puis s'étendent au subiculum et aux secteurs hippocampiques, notamment CA1 (stade II–III). Aux stades intermédiaires, dits « limbiques » (III–IV), la pathologie s'intensifie dans l'hippocampe et gagne le cortex temporal inférieur et d'autres aires associatives. Dans les stades avancés (V–VI), les DNF s'étendent aux régions néocorticales, incluant les aires primaires, en parallèle avec l'aggravation clinique. Ce système de classification a été simplifié par la NIA-AA en trois catégories : B1 (Braak I–II), B2 (Braak III–IV) et B3 (Braak V–VI). Cette progression corrèle étroitement avec la sévérité des symptômes, les stades précoces étant parfois observés chez des individus asymptomatiques, tandis que les stades avancés s'associent presque toujours à un tableau clinique de démence.

Depuis quelques années, de nombreuses études se sont concentrées sur le phénomène de propagation de la pathologie Tau, afin d'expliquer la progression spatio-temporelle des DNF décrite par Braak. L'hypothèse dominante est que la propagation de Tau suivrait un mécanisme de type « prion-like », où des formes pathologiques de Tau (seeds) transféreraient leur conformation anormale à des molécules de Tau normales dans les neurones voisins (Colin et al., 2020). En 2009, Clavaguera et al. ont montré que l'injection intracérébrale de lysats cérébraux murins contenant des DNF, dans des souris ou des rats transgéniques exprimant de la Tau humaine induisait des accumulations de Tau locales, et que cette pathologie pouvait s'étendre vers des régions interconnectées (Clavaguera et al., 2009).

Par la suite, des modèles expérimentaux utilisant des vecteurs viraux (codant pour une Tau mutée) ont confirmé que la pathologie Tau peut apparaître non seulement au site d'injection mais aussi dans des zones cérébrales distantes, suggérant une dissémination interneuronale de la Tau mutée (Dujardin, Lécolle, et al., 2014). Les moyens de transmission envisagés sont multiples : des exosomes (Simón et al., 2012), des ectosomes (Dujardin, Bégard, et al., 2014), des nanotubes intercellulaires (Tardivel et al., 2016) ou des formes libres extracellulaires de Tau (oligomères ou petits agrégats), pouvant être internalisées par les neurones, via des récepteurs, par endocytose, micropinocytose ou d'autres voies (Jackson et al., 2022).

Néanmoins, malgré cette abondance de données expérimentales, des questions majeures subsistent. Par exemple, on ne sait pas encore avec certitude quelles formes de Tau (oligomères, petites fibrilles, fragments tronqués) sont les plus compétentes pour le *seeding* et la propagation *in vivo*. Le concept de Tau comme agent prion-like reste partiellement spéculatif : bien que de nombreux

résultats expérimentaux soutiennent l'analogie, la transmission interhumaine ou la contagiosité entre individus n'a pas été démontrée pleinement (Mudher et al., 2017). Par ailleurs, la vulnérabilité cellulaire et régionale (différentes populations neuronales ne sont pas également sensibles), ainsi que des mécanismes de clairance/interopération microgliale ou astrocytaire, pourraient moduler la propagation. En somme, la propagation prion-like de Tau apporte un cadre théorique séduisant pour expliquer les stades de Braak, mais sa réalité biologique exacte et son impact clinique restent à confirmer.

2.2.7 Interaction entre les deux lésions : moteur de la neurodégénérescence

L'hypothèse de la cascade amyloïde, formulée à la fin des années 1990, propose que l'accumulation extracellulaire des peptides β -amyloïdes constitue l'événement déclencheur de la maladie d'Alzheimer (J. A. Hardy & Higgins, 1992; J. Hardy & Selkoe, 2002; Selkoe & Hardy, 2016). Ces dépôts amyloïdes initieraient une série de processus neurotoxiques, notamment le stress oxydant, l'inflammation, la perturbation du métabolisme calcique et l'activation aberrante de voies de signalisation intracellulaires, entraînant en aval la phosphorylation anormale et l'agrégation de la protéine Tau (Bloom, 2014).

Cependant, les corrélations neuropathologiques et les études d'imagerie ont clairement montré que la charge amyloïde cérébrale ne reflète pas directement la sévérité clinique, alors que c'est la progression spatio-temporelle des lésions Tau qui est corrélée au déclin cognitif observé chez les patients (Giannakopoulos et al., 2003; Brier et al., 2016; Schöll et al., 2016). De plus, il a été montré que les DNF apparaissent avant les plaques amyloïdes (Braak et al., 2004) et aucun patient Alzheimer ne présente de plaques amyloïdes sans DNF (Braak et al., 2011). Cette observation a conduit à une révision du modèle classique, suggérant que les pathologies amyloïde et Tau interagissent étroitement dans un processus pathologique synergique plutôt qu'une simple relation de cause à effet.

Ainsi, de nombreuses données expérimentales soutiennent que l'accumulation d'A β peut favoriser la pathologie Tau. Le peptide A β est capable d'activer des kinases de Tau telles que GSK3 β , CDK5 ou MAPK (Takashima et al., 1996; DaRocha-Souto et al., 2012), augmentant la phosphorylation de Tau et favorisant sa délocalisation anormale du compartiment axonal vers les dendrites. Dans ces régions somato-dendritiques, Tau hyperphosphorylée interfère avec la signalisation synaptique, notamment par son interaction avec Fyn et le complexe post-synaptique PSD-95/NMDA, ce qui conduit à une hypersensibilité au glutamate et à une excitotoxicité neuronale (A. Ittner et al., 2016; L. M. Ittner et al., 2010).

Réciproquement, la présence de Tau pathologique amplifie les effets neurotoxiques d'A β en facilitant la propagation du stress oxydatif, la dysfonction mitochondriale et la perte de plasticité synaptique. Dans les modèles murins dépourvus de Tau, l'exposition au peptide A β n'induit qu'une

toxicité limitée, soulignant le rôle essentiel de Tau dans la médiation des effets délétères de l'amyloïde (Roberson et al., 2007). Cette coopération pathologique se traduit par une boucle d'amplification où A β active la phosphorylation de Tau, et où Tau pathologique renforce la vulnérabilité neuronale face à A β , conduisant à la dégénérescence progressive des circuits hippocampiques et corticaux.

Enfin, bien que cette interaction soit aujourd'hui largement documentée, les mécanismes moléculaires précis liant A β et Tau restent encore mal compris. Les deux protéines semblent interagir à plusieurs niveaux — biochimiques, synaptiques et inflammatoires — mais l'ordre exact des événements et leur poids relatif dans la cascade neurodégénérative font encore l'objet d'un débat. Ce qui est désormais admis, c'est que Tau et A β n'agissent pas indépendamment, mais qu'elles constituent les deux volets d'un processus pathologique commun, dont la synergie détermine la sévérité et la progression clinique de la maladie d'Alzheimer (Spires-Jones & Hyman, 2014).

2.2.8 L'inflammation cérébrale : troisième lésion de la maladie d'Alzheimer ?

L'inflammation cérébrale est aujourd'hui considérée comme la « troisième lésion histopathologique » caractéristique de la maladie d'Alzheimer, aux côtés des dépôts amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires (Heneka et al., 2025). Elle est en grande partie médiée par les dépôts d'A β , qui activent les microglies et les astrocytes environnants, entraînant la libération de cytokines pro-inflammatoires et la mise en place d'un cercle vicieux entre l'accumulation de l'amyloïde et la réponse inflammatoire (Eikelenboom & Stam, 1982; Griffin et al., 1995; Lagomarsino et al., 2021). Par ailleurs, les agrégats de Tau et les oligomères solubles peuvent également stimuler une réponse immunitaire locale, favorisant la progression des lésions et contribuant à la neurodégénérescence (Sheng et al., 1997). Cette neuroinflammation chronique s'accompagne d'un stress oxydant accru, aggravant les dommages neuronaux et synaptiques (Moonen et al., 2023; Thal et al., 1998). Ainsi, l'inflammation dans la MA n'est pas seulement une réponse secondaire aux dépôts pathologiques, mais constitue un processus actif et délétère qui participe à la progression de la maladie.

Chapitre 2 : Les modifications post-traductionnelles de Tau : implication dans le processus physiologique et pathologique

La protéine Tau subit de nombreuses modifications post-traductionnelles (MPT) qui modulent sa conformation, sa localisation et ses interactions cellulaires. Parmi les plus décrites, figurent la phosphorylation, l'acétylation, l'ubiquitination, la méthylation, la O-glycosylation et la troncation (Martin et al., 2011). Ces modifications dynamiques jouent un rôle essentiel dans la régulation fine des fonctions physiologiques de Tau, notamment dans la stabilisation des microtubules, la signalisation intracellulaire et la plasticité neuronale. Cependant, dans un contexte pathologique, des altérations quantitatives et qualitatives de ces MPT peuvent modifier le comportement de la protéine, entraînant une perte de fonction physiologique et/ou un gain de fonction toxique. Ces dérégulations favorisent notamment le détachement de Tau des microtubules, son agrégation, pouvant expliquer le développement des DNF, caractéristiques de la MA, comme abordé dans le précédent chapitre.

Dans ce chapitre, nous nous focaliserons sur deux MPT majeures impliquées dans la pathogenèse de Tau : la phosphorylation, MPT la plus étudiée et la plus documentée, déterminante dans la régulation de Tau, et la troncation, processus plus récent, au cœur de nombreux travaux pour son rôle dans l'initiation et la propagation de la pathologie Tau.

1 La phosphorylation de Tau : une modification post-traductionnelle clé

La phosphorylation est la modification post-traductionnelle de Tau la plus décrite. La protéine Tau, phosphoprotéine, possède en effet 85 sites potentiels de phosphorylation, comprenant 45 sérines, 35 thréonines et 5 tyrosines, représentant respectivement 53 %, 41 % et 6 % des résidus phosphorylables de la protéine (Hanger et al., 2009). Ce phénomène, finement régulé par l'action coordonnée de nombreuses kinases et phosphatases, module les fonctions physiologiques de Tau, notamment son interaction avec les microtubules et la dynamique du cytosquelette ainsi que sa localisation. Toutefois, dans un contexte pathologique, cet équilibre est rompu : la phosphorylation devient excessive et anormale, altérant les fonctions normales de Tau et favorisant son agrégation (Avila, 2006). C'est cette dérégulation que nous aborderons dans la suite de cette partie.

1.1 Kinases et phosphatases : régulateurs de la phosphorylation de Tau

La phosphorylation de Tau est régulée par de nombreuses kinases, enzymes qui catalysent le transfert d'un groupement phosphate vers des protéines cibles, sur des résidus sérine, thréonine ou tyrosine. La phosphorylation de Tau est régulée par 3 familles de kinases selon les motifs de reconnaissance (Martin et al., 2013). Les kinases de la famille « Proline Directed Protein Kinases (PDPK) » phosphorylent les résidus Sérine (Ser) et Thréonine (Thr) suivis d'un résidu proline (Pro). Dans ce groupe, GSK3 β (Glycogen Synthase Kinase β) est l'une des kinases majeures de Tau, ainsi que CDK5 (Cyclin-Dependent-Like-Kinase-5) et des MAPK (Mitogen-activated protein kinases) comme p38, Erk1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1 et 2) et JNK (c-Jun N-terminal kinases). La deuxième famille est composée des kinases non PDPK : elles phosphorylent les Ser et Thr non suivis d'un résidu Pro. Cette famille inclut par exemple la CaMKII (Calcium/Calmoduline-Activated Protein Kinase II), la PKA (Protein Kinase A) et MARK (Microtubule Affinity Regulating Kinase). Enfin, la troisième famille est composée de kinases spécifiques des tyrosines (TPK). On y retrouve des kinases de la famille des Src comme Fyn, SYk (spleen tyrosine kinase) et Lck (lymphocyte-specific protein tyrosine kinase).

À l'inverse des kinases, les phosphatases assurent la déphosphorylation de Tau en hydrolysant les groupements phosphates, notamment les « Phospho-Protein Phosphatases » (PPP). Parmi elles, PP1, PP2A, PP2B et PP5 sont toutes capables de déphosphoryler la protéine Tau (Martin et al., 2013). Toutefois, PP2A est prédominante dans le cerveau humain, contribuant à près de 70 % de l'activité totale, tandis que PP1, PP2B et PP5 participent respectivement à 11 %, 10 % et 7 % (F. Liu et al., 2005).

1.2 La phosphorylation : modulatrice des fonctions physiologiques de Tau

Dans des conditions physiologiques, la phosphorylation module la fonction de Tau, mais en situation pathologique elle est largement augmentée, réduisant son affinité pour les microtubules et entraînant une déstabilisation du cytosquelette neuronal. Certaines phosphorylations situées au niveau du domaine de liaison aux microtubules (par ex. Ser262, Ser293, Ser324 et Ser356) (Biernat et al., 1993; Drewes et al., 1995; D. Fischer et al., 2009) ou dans des régions adjacentes comme le domaine riche en proline (Thr231 et Ser235) (Cho & Johnson, 2004b) diminuent fortement la capacité de Tau à stabiliser les microtubules, favorisant ainsi son détachement et sa redistribution vers le compartiment somato-dendritique. Ce relargage contribue à la formation d'oligomères et d'agrégats pathologiques, processus clé des tauopathies. La phosphorylation exerce également des effets additionnels : elle peut interférer avec la dégradation de Tau, modifier ses interactions avec des partenaires cellulaires (Fyn, ADN, membranes) et altérer la transmission synaptique (Brandt et al., 1995; Reynolds et al., 2008). De

manière intéressante, certaines phosphorylations spécifiques semblent toutefois exercer un rôle protecteur, comme celle du résidu Thr205 qui, dans un modèle murin de MA, limite la toxicité induite par l'amyloïde- β en perturbant l'assemblage du complexe Tau/Fyn/PSD-95 (A. Ittner et al., 2016). Ces observations soulignent que la phosphorylation de Tau est une régulation site-spécifique aux conséquences plurielles, pouvant à la fois favoriser la pathologie ou, dans certains contextes, représenter une réponse neuroprotectrice.

1.3 La phosphorylation de Tau : un processus dérégulé dans la maladie d'Alzheimer

L'hyperphosphorylation de Tau dans la MA est un marqueur précoce de la pathologie. En effet, sur les 85 sites potentiels de phosphorylation, 28 sont exclusivement retrouvés dans les cerveaux atteints de MA, ce qu'on appelle phosphorylation anormale de Tau, et 16 sont retrouvés chez les contrôles et les cerveaux Alzheimer, appelée hyperphosphorylation lorsqu'ils présentent une phosphorylation excessive dans la MA (*Figure 14*).

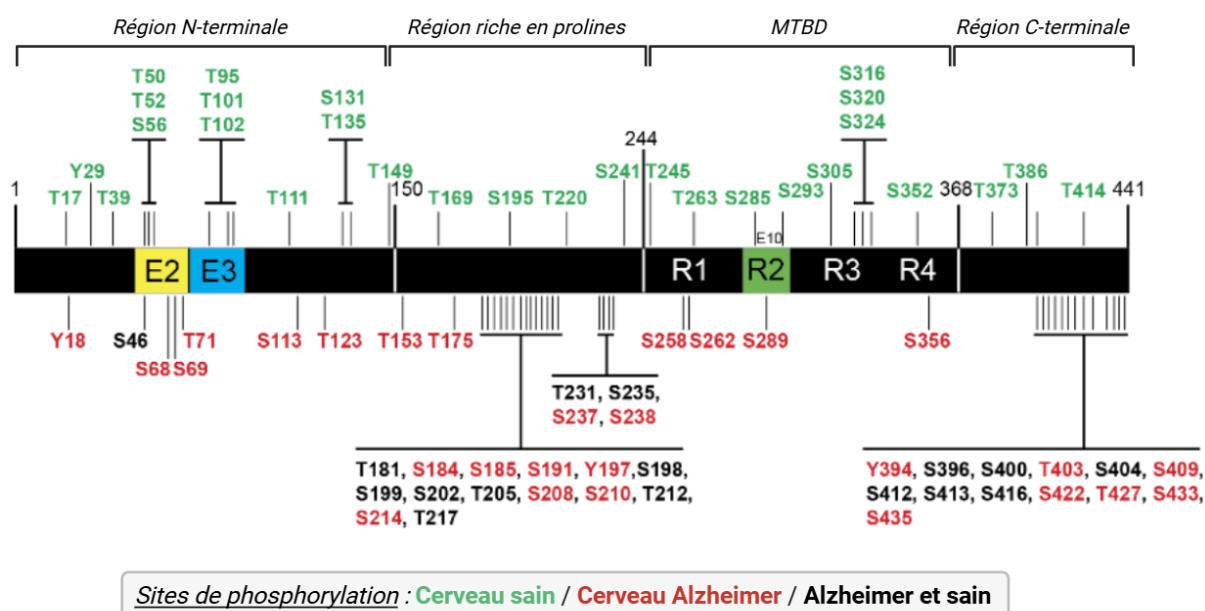


Figure 14 | Sites de phosphorylation physiologiques et pathologiques de la protéine Tau.

Les sites de phosphorylation identifiés uniquement dans le cerveau sain sont indiqués en vert, au-dessus du schéma représentant l'isoforme 2N4R de la protéine Tau ; les sites observés uniquement chez les patients atteints de la MA sont indiqués en rouge, sous le schéma ; ceux retrouvés à la fois dans le cerveau sain et dans la MA sont indiqués en noir. Figure adaptée de (Da Costa et al., 2022).

Certains sites de phosphorylation comme S199, S202, S205, T231 et S262 sont particulièrement impliqués dès la phase de pré-enchevêtrement (Augustinack et al., 2002; Munoz & Ammit, 2010). Certaines modifications apparaissent au cours de la progression de la maladie, par exemple Ser422, qui est corrélée à une augmentation de la protéine Tau dans le soma (Hanger & Wray, 2010) ou encore Ser396 dont la phosphorylation augmente avec la progression de la maladie (Kimura et al., 1996). De plus, il a été montré que la phosphorylation des résidus T217, T231, S262 et S396 jouait un rôle dans l'agrégation de Tau (J.-P. Guo et al., 2006; Kadavath et al., 2018; Savastano et al., 2021). Ces phosphorylations perturbent la fixation de Tau aux microtubules, favorisent son accumulation dans le compartiment somato-dendritique et stimulent son agrégation en oligomères et filaments pathologiques.

Ces altérations reflètent une dérégulation des kinases impliquées dans la régulation de la phosphorylation de Tau. Parmi elles, la GSK3 β cible plus de 40 sites de Tau, et parmi ces sites, 29 sont retrouvés phosphorylés dans la MA (Sergeant et al., 2005). Dans des modèles animaux, il a été montré que l'augmentation de l'activité de GSK3 β induisait une hyperphosphorylation de Tau, une neurodégénérescence de l'hippocampe, des troubles mnésiques, une réponse inflammatoire ainsi qu'une augmentation de la production d'A β (Lucas et al., 2001). De plus, la surexpression de GSK3 β dans des lignées cellulaires induit une mort cellulaire par apoptose (Bhat et al., 2000, 2002). Chez les patients atteints de MA, GSK3 β co-localise avec les DNF (Pei et al., 1997; Yamaguchi et al., 1996), et sa forme active, phosphorylée en Tyr216, est augmentée dans le cortex frontal des cerveaux de patients (Leroy, Yilmaz, et al., 2007). En raison de cette élévation de l'activité de GSK3 β dans la MA et de son rôle dans l'accélération de la pathologie Tau, cette kinase constitue une cible thérapeutique prometteuse pour la MA (Cohen & Goedert, 2004; Hooper et al., 2008). D'autres kinases contribuent également à l'hyperphosphorylation de Tau, comme CDK5, via son complexe hyperactif CDK5/p25, induisant une accumulation des DNF dans plusieurs modèles (Patrick et al., 1999). Les MAPK, comme p38, Erk1/2 et JNK, sont retrouvés hyperactivés dans les cerveaux de patients de la MA, phosphorylant Tau sur des sites spécifiques retrouvés dans la MA (Ferrer et al., 2001; Swatton et al., 2004).

En parallèle, un déficit de l'activité des phosphatases accentue cette dérégulation. Si en condition physiologique, PP2A est responsable de 70 % de l'activité de déphosphorylation de Tau, dans la MA, son activité est réduite d'environ 50 %. On observe la même chose pour PP5, qui voit son activité diminuer de 20 % (F. Liu et al., 2005). Cette baisse est fortement corrélée à l'augmentation de la phosphorylation pathologique de Tau, suggérant que la perte d'activité de PP2A est un facteur clé de l'hyperphosphorylation et de la progression des tauopathies.

2 La troncation de Tau : une modification post-traductionnelle émergente

Plusieurs études post-mortem ont confirmé la présence de fragments tronqués de Tau dans les cerveaux atteints de MA, notamment dans les régions hippocampiques et corticales (Horowitz et al., 2004; Gamblin et al., 2003). Ces fragments apparaissent tôt dans le processus pathologique, parfois même avant la formation visible des DNF, suggérant qu'ils jouent un rôle clé dans l'initiation de l'agrégation et de la propagation de la pathologie Tau (Binder et al., 2005; Basurto-Islas et al., 2008).

La troncation de la protéine Tau correspond à un clivage protéolytique, dans la partie N ou C-terminale de Tau, par des enzymes appelées protéases, générant des fragments plus courts qui diffèrent par leur taille et impactent leur localisation, leurs propriétés biochimiques et leurs fonctions. Alors que dans des conditions physiologiques, certains clivages de Tau participent au renouvellement ou à la régulation de la protéine, une troncation excessive et anormale est observée dans plusieurs tauopathies, en particulier dans la MA et leur abondance dans les DNF est corrélée avec le degré de démence et les stades de Braak. Ces formes tronquées de Tau perdent souvent leur capacité à stabiliser les microtubules (perte de fonction), mais acquièrent en parallèle des propriétés pro-agrégatives et neurotoxiques (gain de fonction toxique), favorisant la formation d'oligomères, de fibrilles et, à terme, des dégénérescences neurofibrillaires (DNF). C'est cela que nous verrons dans cette partie.

2.1 Les protéases impliquées dans la troncation de Tau

Plus de 60 sites de clivage ont été identifiés sur la protéine Tau, produisant de nombreux fragments distincts. Plusieurs classes de protéases contribuent à cette génération, chacune privilégiant des sites spécifiques (**Figure 15**).

Les caspases (McIlwain et al., 2015), en particulier la caspase-3, sont les premières protéases identifiées comme responsables du clivage de Tau, au site Asp421 (D421). C'est l'un des clivages les plus étudiés : le fragment D421 est fréquemment retrouvé dans les PHF et DNF des cerveaux de patients atteints de la MA et il favorise l'agrégation de Tau (Gamblin et al., 2003). D'autres études suggèrent aussi l'action possible de la caspase 6 pour générer des fragments D402 ou D421. L'asparagine endopeptidase (AEP) est une protéase lysosomale activée dans des conditions de stress (acidification), capable de cliver Tau aux sites N255 et N368. Ces troncations réduisent la capacité de liaison aux microtubules et augmentent la propension à l'agrégation, produisant des fragments hautement toxiques comme Tau1-368, souvent observés dans les modèles expérimentaux et les tissus

pathologiques. Les calpaines, dépendantes du calcium, clivent Tau en divers points N- et C-terminaux dans des situations de stress calcique ou d'excitotoxicité (Dear & Boehm, 2001; Moldoveanu et al., 2002). D'autres enzymes, comme des cathepsines lysosomales (Yamashima, 2013), thrombine (Arai et al., 2006) ou des métalloprotéases intracellulaires (ADAM10) (Henriksen et al., 2013), participent aussi à la génération d'une diversité de fragments (Derisbourg et al.; Chu & Liu, 2024). Chaque protéase produit des fragments ayant des propriétés spécifiques selon le site de clivage, la conformation restante de Tau et son contexte cellulaire.

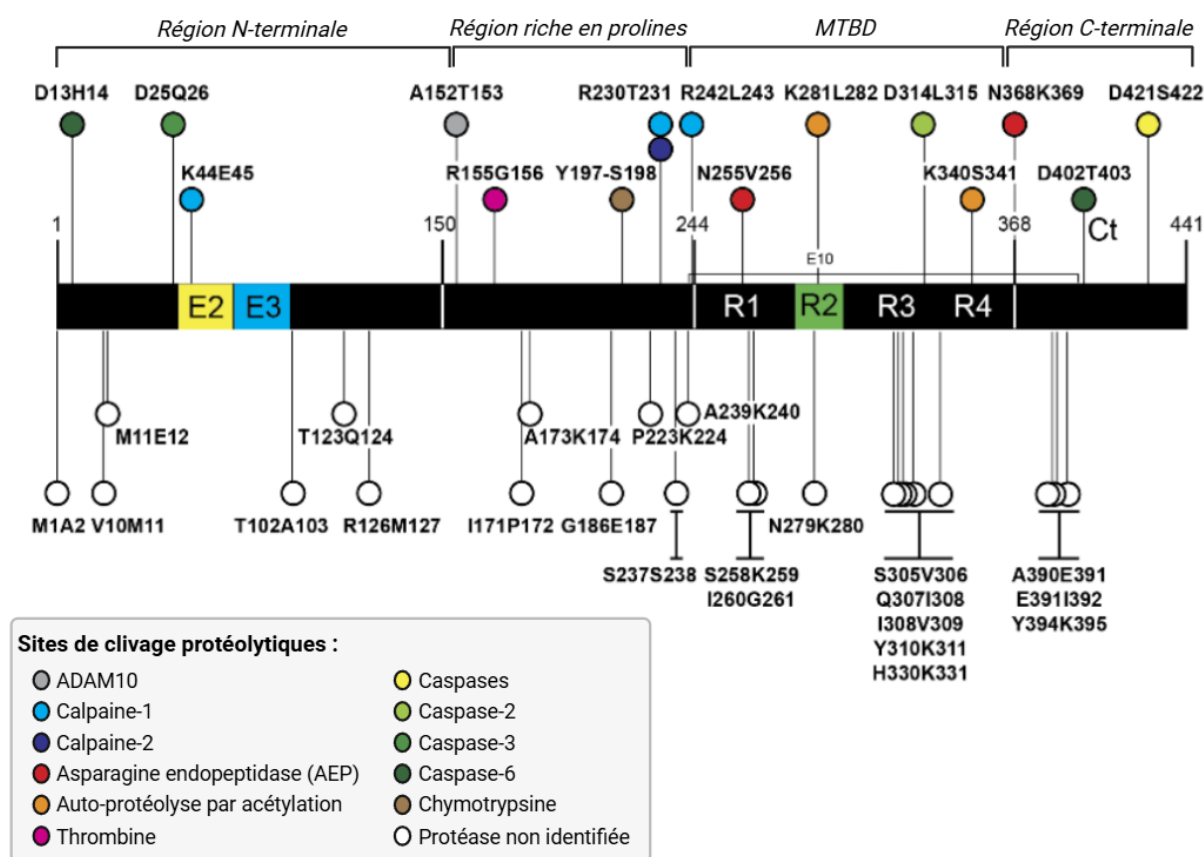


Figure 15 | Sites de clivage de la protéine Tau.

Les sites de clivage identifiés sont indiqués au-dessus du schéma de l'isoforme 2N4R de la protéine Tau, avec un code couleur correspondant aux différentes protéases impliquées. Les autres sites de clivage, générés par des protéases encore non identifiées, sont représentés en dessous du schéma, en blanc. Figure adaptée de (Da Costa et al., 2022).

2.2 Les formes tronquées de Tau C-terminales, retrouvées dans la maladie d'Alzheimer

Plusieurs fragments tronqués de Tau ont été identifiés dans les cerveaux de patients atteints de la MA et d'autres tauopathies, notamment dans les fractions insolubles correspondant aux fibrilles hélicoïdales appariées (PHF), aux filaments droits ou aux DNF (Zheng & Wang, 2025). Parmi les formes les plus étudiées, celles tronquées en C-terminal ont été décrites dès les années 1990. L'un des premiers fragments identifiés fut le fragment se terminant par le résidu aspartate 421 (Tau1-421 ou D421), issu du clivage par la caspase-3, mis en évidence par l'anticorps Tau C3 (Gamblin et al., 2003). Il a été montré que ce fragment s'accumulait dans les neurones atteints et il est considéré aujourd'hui comme un marqueur de l'évolution de la pathologie. Des analyses immunohistochimiques ont par la suite confirmé que la densité de Tau tronquée en D421 augmente de manière significative avec les stades de Braak, reflétant la progression anatomique de la MA (Basurto-Islas et al., 2008).

D'autres études ont identifié des clivages plus distaux, notamment au niveau du résidu glutamate 391 (Tau1-391 ou E391), abondant dans les PHF isolés du cerveau de patients Alzheimer (Wischik et al., 1988; M. Novak et al., 1993). Ce fragment a été mis en évidence grâce aux travaux de Novak et Wischik, qui ont démontré que la digestion enzymatique des PHF à la pronase permettait d'isoler une structure interne résistante, appelée « PHF core », constituée du cœur des filaments appariés. L'analyse de ce cœur a révélé la présence d'un fragment tronqué de Tau s'arrêtant au résidu E391, correspondant à la partie du MTBD. Ce PHF core, hautement stable et enrichi en séquences répétées (notamment les motifs VQIVYK et VQIINK), constitue le noyau structurel des filaments Tau autour duquel s'enroulent les régions N et C-terminales, pour former la structure en « trombone » ou encore appelée « paperclip », comme vu précédemment dans le premier chapitre (**Figure 16 A**).

Des coupures adjacentes, notamment autour des résidus D402, T403 et S422, ont également été décrites dans les cerveaux Alzheimer et, dans une moindre mesure, dans d'autres tauopathies (Quinn et al., 2018).

D'autres clivages C-terminaux, notamment au niveau des résidus Asn255 et Asn368, ont été mis en évidence plus récemment (Z. Zhang et al., 2014). Ces sites sont spécifiquement reconnus par l'AEP, activée dans des conditions acides et de stress cellulaire. L'activité accrue de l'AEP dans les cerveaux atteints de MA conduit à la production de fragments Tau1-255 et Tau1-368, détectés dans les régions corticales et hippocampiques affectées (English et al., 2021).

Ces formes C-terminales tronquées ne se limitent pas à la MA : des fragments similaires ont été identifiés dans d'autres tauopathies primaires, notamment dans les PSP, la CBD et

l'encéphalopathie traumatique chronique (CTE), bien que leurs profils de clivage varient selon les isoformes 3R ou 4R de Tau (Guillozet-Bongaarts et al., 2007; Mondragón-Rodríguez et al., 2008).

Ainsi, l'ensemble de ces travaux a permis de dresser une cartographie précise des sites de clivage C-terminaux (autour de D421, E391 et S422 principalement). Leur détection, notamment dans le LCR, fait aujourd'hui l'objet d'un nombre croissant d'études visant à évaluer leur potentiel en tant que biomarqueurs et futurs outils diagnostiques.

2.3 Les formes tronquées de Tau N-terminales, retrouvées dans la maladie d'Alzheimer

Les troncations en N-terminales de Tau correspondent à des coupures protéolytiques, souvent dans le domaine de projection, de l'extrémité N-Ter de la molécule, produisant alors des fragments tronqués plus courts mais avec leur région riche en proline et/ou leur MTBD intacte. Bien que ces troncations soient moins étudiées que les C-terminales, certaines formes ont néanmoins été identifiées dans le cerveau de patients atteints de la MA. Une étude a par exemple montré la présence d'un fragment débutant par l'Asp25 dans l'hippocampe de modèles murins de MA et cellulaires. Des études *in vitro* ont montré qu'elle était clivée par la caspase 3 (Corsetti et al., 2008). Une autre forme tronquée, générée par la caspase 6 et débutant à l'Asp13, est retrouvée *in vitro* (Horowitz et al., 2004).

Des études plus récentes de l'équipe ont identifié d'autres fragments N-tronqués, à partir de tissus cérébraux humains atteints de la MA, par une approche protéomique (M. Derisbourg et al., 2015). Le fragment Gln124-Tau en est un exemple : il correspond à une version tronquée de Tau dépourvue de sa région N-terminale, mais conservant l'ensemble du domaine de liaison aux microtubules. Cette forme montre une affinité accrue pour les microtubules et induit une stabilisation excessive de ces derniers, avec augmentation des marqueurs de microtubules stables comme l'acétylation de la tubuline. Par ailleurs, un clivage encore plus amont, au niveau du résidu Met11, a également été mis en évidence dans les cerveaux de patients atteints de la MA. Ce variant représente un intérêt particulier car le site de troncation se situe dans l'exon 1, commun aux six isoformes de la protéine.

Fonctionnellement, la perte du domaine N-terminal perturbe non seulement les interactions protéiques mais favorise également un gain de fonction toxique : exposition accrue du domaine MTBD, risque d'agrégation et dérégulation de la dynamique du cytosquelette (Amadoro et al., 2020). Cette exposition non régulée du domaine de liaison favorise aussi la formation d'agrégats de type PHF (paired helical filaments), caractéristiques de la MA et des tauopathies en général. Ainsi, le domaine

N-terminal de Tau, loin d'être une simple région flexible, est une zone régulatrice majeure dont l'intégrité est nécessaire à l'homéostasie de la protéine et à son bon fonctionnement neuronal. Sa troncation peut être à la fois un marqueur et un moteur de dysfonctionnement pathologique.

2.4 Conséquences de la troncation sur les fonctions de Tau

Comme vu précédemment dans le premier chapitre, Tau est une protéine multifonctionnelle, impliquée dans de nombreux processus cellulaires tels que la stabilisation des microtubules, le transport axonal, la signalisation intracellulaire ou encore la régulation synaptique. En conséquence, toute altération de sa structure, notamment par la troncation, peut avoir des répercussions majeures sur ses fonctions. La troncation de Tau joue ainsi un rôle central dans la pathogenèse de la MA, en favorisant à la fois la perte de ses fonctions physiologiques et l'acquisition de propriétés toxiques (Chu et al., 2024). De nombreuses études ont montré que des formes tronquées de Tau sont présentes dans les fractions oligomériques, les filaments hélicoïdaux appariés (PHF) et les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) issues de cerveaux de patients atteints de MA, ainsi que dans plusieurs modèles murins de la maladie (Y. Wang & Mandelkow, 2016). Ces fragments sont souvent résistants à la protéolyse et corrélés à la progression neuropathologique décrite par Braak.

2.4.1 Troncation de Tau et agrégation : gain de fonction toxique

Ces observations indiquent que les formes tronquées de Tau participent activement à la formation d'agrégats insolubles. Certains clivages spécifiques, tels que ceux des résidus Glu391 (E391) et Asp421 (D421), sont étroitement corrélés à la progression des stades neuropathologiques de Braak (Basurto-Islas et al., 2008). Ces clivages éliminent les extrémités régulatrices de Tau et exposent son domaine de liaison aux microtubules (MTBD), qui contient deux motifs hydrophobes cruciaux, PHF6 (VQIINK, résidus 275–280), dans le motif de répétition R2 et PHF6* (VQIVYK, résidus 306–312), dans le motif répété R3 (**Figure 16, A**). Ces séquences, partiellement masquées dans la conformation native de Tau en « paperclip » (**Figure 16, B**), deviennent accessibles après troncation et jouent un rôle déterminant dans la nucléation et l'auto-assemblage de Tau en fibrilles (von Bergen et al., 2006; Ambadipudi et al., 2017; P. Novak et al., 2018). Ainsi, la troncation confère à Tau un gain de fonction toxique : la protéine acquiert une capacité accrue à s'agréger et à former des structures fibrillaires stables de type PHF, caractéristiques de la MA. Ces fragments tronqués se détachent alors des microtubules et induisent la conversion de la Tau native en formes anormales, perturbant ainsi la stabilité et l'organisation du cytosquelette neuronal (Iqbal et al., 2016; Y. P. Wang et al., 2007).

Des études *in vitro* ont montré que plusieurs fragments tronqués de Tau, tels que E391, D421, Tau 304–380, K18/K280 (correspondant à 4R-Tau 243–372/280) ou encore K12 (3R-Tau 243–394), sont

capables de s'auto-assembler en agrégats fibrillaires, même en l'absence d'inducteurs anioniques comme l'héparine (Gamblin et al., 2003; von Bergen et al., 2006; Ambadipudi et al., 2017; J. Gu et al., 2020). Ces résultats suggèrent que la troncation de Tau pourrait représenter un événement précoce et déclencheur dans la cascade d'agrégation menant à la formation des DNF observées dans la MA (Luna-Viramontes et al., 2020).

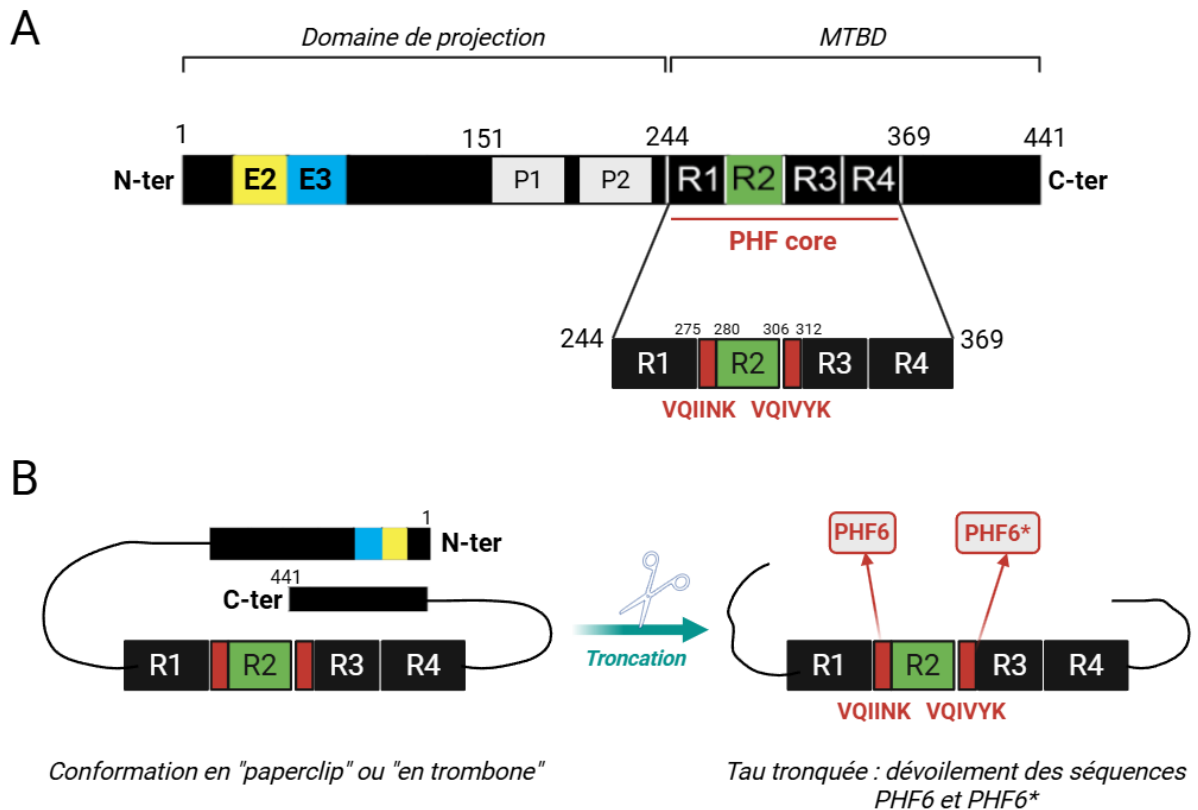


Figure 16 | Conséquences de la troncation de Tau sur le démasquage des motifs pro-agrégatifs PHF6 et PHF6*.

(A) Représentation schématique de l'isoforme 2N4R de Tau. Le cœur des filaments hélicoïdaux (PHF core) est constitué de deux motifs d'agrégation : PHF6, dans le motif répété R2, et PHF6*, dans le motif répété R3. (B) Dans des conditions physiologiques, la protéine Tau adopte une conformation compacte dite en « paperclip » ou « en trombone », dans laquelle les domaines N-terminal et C-terminal interagissent et masquent les motifs pro-agrégatifs. En revanche, la troncation induit une ouverture de la structure, exposant les séquences PHF6 et PHF6*, favorisant ainsi l'auto-assemblage et la formation d'agrégats. Figure faite sur Biorender.

2.4.2 Troncation de Tau et modulation des modifications post-traductionnelles

La troncation de Tau influence directement ses modifications post-traductionnelles, notamment la phosphorylation et l'ubiquitination, deux régulations clés de sa stabilité et de son agrégation. Plusieurs études ont montré que la troncation favorise une hyperphosphorylation site-spécifique et accélère la formation d'agrégats, alors que la phosphorylation seule de la Tau entière ne suffit pas à induire ce processus (Cho & Johnson, 2004a). Dans des neurones traités avec le peptide amyloïde- β , le clivage de Tau précède la phosphorylation (Park & Ferreira, 2005), suggérant qu'il constitue un événement en amont dans la cascade pathologique (Corsetti et al., 2008; Reimer et al., 2021). Cette interaction est toutefois bidirectionnelle : certaines phosphorylations, comme celles des épitopes S422 ou AT8 (S199/S202/T205), peuvent au contraire empêcher le clivage au niveau du site D421 (Cao et al., 2018), soulignant la complexité des régulations croisées entre troncation et phosphorylation.

Parallèlement, la voie de l'ubiquitination participe à la clairance des formes tronquées. Le fragment D421, fréquemment retrouvé dans les cerveaux de patients Alzheimer, est préférentiellement ubiquitiné par la ligase CHIP, qui favorise sa dégradation (Day et al., 2015; Saidi et al., 2015). Cependant, une diminution de CHIP dans l'hippocampe des cerveaux à un stade avancé de la maladie pourrait contribuer à l'accumulation de Tau tronquée et à la progression des DNF (Ravalin et al., 2019).

Ces observations soulignent que la troncation de Tau ne se limite pas à un simple événement protéolytique, mais constitue un point de régulation majeur influençant la phosphorylation, la dégradation et la stabilité de la protéine. En perturbant ces mécanismes, les formes tronquées acquièrent un potentiel toxique accru, qui se traduit par des altérations fonctionnelles à plusieurs niveaux cellulaires. Elles affectent notamment le cytosquelette microtubulaire, la fonction synaptique, ainsi que l'intégrité mitochondriale et la survie neuronale, contribuant ainsi directement à la progression des tauopathies et à la dégénérescence neuronale observée dans la maladie d'Alzheimer.

2.4.3 Troncation de Tau et altération des fonctions synaptiques

Les formes tronquées de Tau exercent un effet délétère majeur sur la fonction synaptique. Contrairement à la protéine Tau physiologique, principalement axonale, les fragments tronqués présentent une mauvaise localisation cellulaire, s'accumulant dans le soma, les dendrites et même dans les compartiments synaptiques (Amadoro et al., 2012). Cette redistribution anormale contribue à une dysfonction synaptique globale, caractérisée par une perte de synapses (Z. Zhang et al., 2014), une réduction de la densité synaptique et des vésicules présynaptiques (Jadhav et al., 2015; Kim et al.,

2016), ainsi qu'une altération de protéines clés de la transmission synaptique. De plus, les Tau tronquées entraînent un mauvais tri des protéines synaptiques (Ozcelik et al., 2016), compromettant la plasticité et la communication neuronale (Biundo et al., 2017).

Au niveau mécanistique, ces effets reposent en grande partie sur la perturbation de la dynamique microtubulaire. Dans un modèle transgénique exprimant la forme humaine tronquée 3R-Tau151–391, Tau est retrouvée dans les compartiments pré- et post-synaptiques, où elle provoque une diminution des vésicules synaptiques et une accumulation anormale d' α - et de β -tubuline dans la fraction membranaire synaptique (Jadhav et al., 2015). Ces changements s'accompagnent d'une stabilisation excessive des microtubules présynaptiques, visible par la présence accrue de tubulines acétylées et détyrosinées, susceptible de nuire au transport axonal et à la plasticité synaptique. Enfin, certaines formes tronquées comme le variant Tau Gln124, qui conservent le MTBD, montrent une affinité accrue pour les microtubules, entraînant une stabilisation excessive du réseau cytosquelettique (M. Derisbourg et al., 2015). Si cette rigidification peut temporairement renforcer la structure neuronale, elle compromet à long terme la plasticité synaptique et la capacité adaptative des neurones (P. Novak et al., 2018).

2.4.4 Troncation de Tau et dysfonctionnement mitochondrial

Les formes tronquées de Tau participent également à la dysfonction mitochondriale, un mécanisme clé de la neurodégénérescence observée dans la maladie d'Alzheimer. Ces fragments, qu'ils contiennent ou non le MTBD, altèrent le transport, la bioénergétique et la dynamique de fission/fusion mitochondriale, compromettant ainsi le bon fonctionnement neuronal, notamment dans les compartiments synaptiques (Quintanilla et al., 2012; Pérez et al., 2018; Quintanilla et al., 2020). Parmi ces formes, le fragment D421 induit une fragmentation mitochondriale marquée dans les neurones corticaux primaires, aussi bien chez les souris sauvages que chez les souris déficientes en Tau (MAPT-KO) (Pérez et al., 2018; Quintanilla et al., 2012). De plus, l'expression de ce fragment D421 provoque une accumulation anormale des mitochondries dans le soma et une réduction de leur mobilité le long des prolongements neuronaux. Ce phénomène serait lié à une interaction accrue avec la kinésine, perturbant le trafic axonal et diminuant la disponibilité en ATP nécessaire à la motilité mitochondriale (Quintanilla et al., 2020). Ces perturbations entraînent un déséquilibre énergétique local et compromettent la transmission synaptique, accentuant la vulnérabilité neuronale dans la MA.

2.4.5 Les formes tronquées de Tau : des biomarqueurs potentiels de la maladie d'Alzheimer

Au-delà de leur rôle dans la pathogenèse, plusieurs études suggèrent que les formes tronquées de Tau, notamment les fragments N-terminaux, pourraient constituer des biomarqueurs prometteurs

pour le diagnostic de la MA. En effet, certaines formes tronquées de leur partie N-terminale et C-terminale, telles que la Tau 26–230 ou les peptides 9–198 et 9–163, ont été détectées en concentrations accrues dans le liquide cébrospinal (LCR) de patients atteints de MA, permettant de différencier ces derniers de sujets témoins ou atteints d'autres troubles neurologiques (Amadoro et al., 2014; Meredith et al., 2013). Plus récemment, la forme N-224, issue du clivage par la calpaïne-2, a été identifiée dans les DNF et retrouvée augmentée dans le LCR des patients atteints de MA, corrélée avec le déclin cognitif et les scores réduits au MMSE (Cicognola et al., 2019, 2020, 2020). Enfin, la détection de Tau dans la salive représente une piste non invasive, bien que les formes tronquées n'aient pas encore été clairement identifiées et que les taux de Tau totale ne diffèrent pas entre sujets MA et contrôles (Ashton et al., 2018, 2019). Ces résultats positionnent ainsi les fragments N-terminaux de Tau comme des outils diagnostiques potentiels pour une détection précoce et moins invasive de la MA.

2.4.6 Les formes tronquées de Tau : de nouvelles cibles thérapeutiques ?

Les formes tronquées de Tau représentent aujourd'hui des cibles thérapeutiques majeures dans la MA. Plusieurs approches sont explorées, notamment les immunothérapies, les inhibiteurs d'agrégation et les modulateurs enzymatiques. Les anticorps dirigés contre les épitopes N-terminaux de Tau (BIIB076, Gosuranemab, Tilavonemab, Semorinemab) ont montré une efficacité limitée, probablement en raison de l'absence de ces épitopes dans les formes tronquées toxiques de Tau (Zhou et al., 2018; Slomski, 2022). En revanche, le ciblage du domaine central contenant la région MTBD, essentielle à l'agrégation, semble plus prometteur (Ozcelik et al., 2016). Parallèlement, l'inhibition des protéases impliquées dans la troncation, telles que la caspase-2, MMP-9 ou AEP, a montré des effets neuroprotecteurs dans différents modèles expérimentaux (Z. Zhang et al., 2014; Ciccone et al., 2021; P. Liu & Ashe, 2021). Ces approches ouvrent la voie à des stratégies visant à prévenir la formation des formes tronquées pathogènes plutôt qu'à en traiter les conséquences.

En somme, la troncation de Tau apparaît comme un mécanisme central dans la pathogenèse de la MA, à la croisée entre la perte de fonction physiologique, le gain de fonction toxique et la propagation de la pathologie. En perturbant la stabilité microtubulaire, la signalisation synaptique et l'intégrité mitochondriale, les formes tronquées participent activement à la dégénérescence neuronale et représentent à la fois des biomarqueurs prometteurs et des cibles thérapeutiques potentielles.

2.5 Nouvelle forme pathologique de la protéine Tau : AcMet11-Tau

2.5.1 Découverte du variant AcMet11-Tau

Dans ce contexte d'étude de nouvelles formes N-tronquées de Tau, notre équipe a récemment identifié un nouveau variant de Tau, tronqué dans sa région N-terminale, dont la caractérisation fonctionnelle pourrait apporter un éclairage inédit sur les mécanismes de dérégulation de la traduction et de pathogénicité associés à Tau. Grâce à une approche de protéomique de spectrométrie de masse menée à partir de tissus cérébraux de patients atteints de la MA, plusieurs fragments N-tronqués ont été mis en évidence, notamment un variant débutant au résidu Gln124, comme vu précédemment (M. Derisbourg et al., 2015). En plus de ce variant, une forme jusqu'alors inconnue, commençant au codon de la méthionine 11, a également été découverte. Ce variant, nommé Met11-Tau, se distingue par la présence d'une modification post-traductionnelle inédite pour Tau, la N- α -acétylation, conduisant à nommer ce variant AcMet11-Tau (**Figure 17, A**). Cette nouvelle forme de Tau est donc tronquée de ses dix premiers acides aminés, par rapport à la protéine Tau entière. Comme vu précédemment dans le chapitre sur les fonctions de Tau et dans la partie troncation, notamment celles de l'extrémité N-terminale et du domaine de projection, cette troncation pourrait conférer à Tau des propriétés structurales et fonctionnelles potentiellement uniques. L'identification de ce variant ouvre donc de nouvelles perspectives sur le rôle des MPT et de la N- α -acétylation dans la régulation de Tau et dans les processus pathologiques liés à la MA.

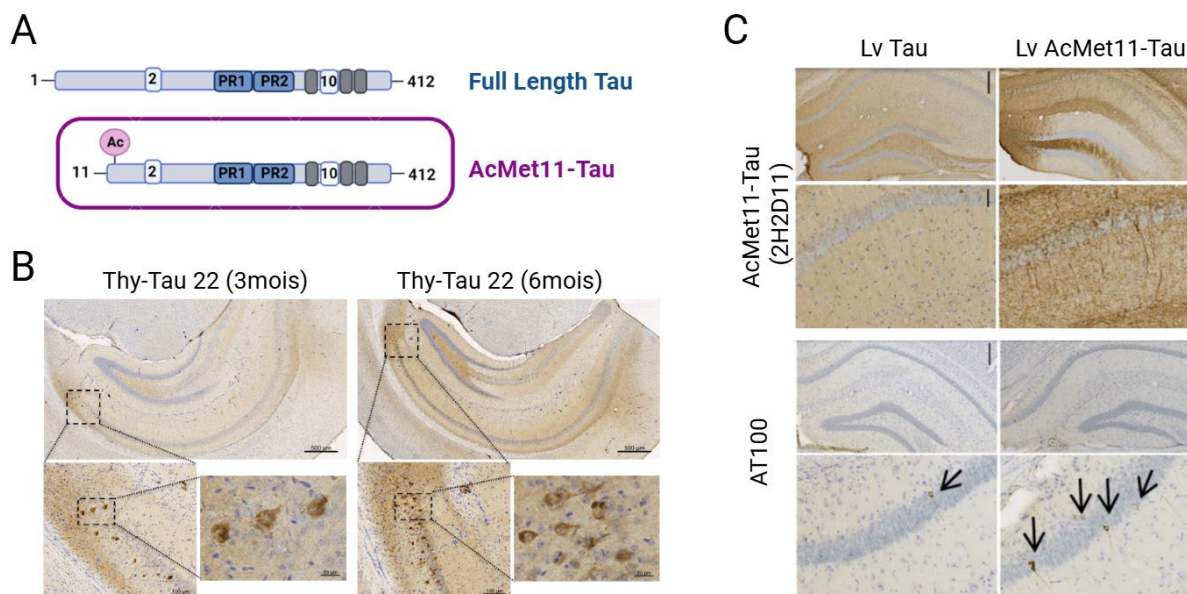


Figure 17 | La découverte du variant AcMet11-Tau et son rôle dans le développement de la pathologie Tau.

(A) Schéma représentant la protéine Tau entière (1N4R) et le variant AcMet11-Tau, débutant à la méthionine 11, portant une acétylation N-terminale. (B) Images représentatives de l'immunohistochimie sur des coupes d'hippocampe de souris Thy-Tau 22 âgées de 3 ou 6 mois, avec l'anticorps 2H2D11, spécifique de l'AcMet11-Tau. (C) Images représentatives de l'immunohistochimie sur des coupes d'hippocampe de souris Thy-Tau 30, deux mois après injection hippocampique (CA1) de vecteurs lentiviraux de la Tau entière (Lv Tau) ou d'AcMet11-Tau (Lv AcMet11-Tau). Figure adaptée de (Guedjdal et al., 2025), faite sur Biorender.

2.5.2 Nouvelle modification post-traductionnelle : la N- α -acétylation

2.5.2.1 Principe de la N- α -acétylation et NAT associées

La N- α -acétylation (ou acétylation N-terminale) est l'une des modifications post-traductionnelles les plus répandues chez les eucaryotes, touchant plus de 80 % des protéines cytosoliques humaines. Elle consiste en l'ajout irréversible d'un groupement acétyle, dérivé de l'acétyl-coenzyme A, sur le premier acide aminé d'une protéine naissante (**Figure 18, A**). Ce processus est catalysé par un ensemble d'enzymes appelées N-terminal acetyltransferases (NATs), regroupées en plusieurs complexes (Nat A à Nat H), en fonction du substrat reconnu. Parmi celles-ci, certaines présentent une activité post-traductionnelle (Nat F, Nat G et Nat H) mais la plupart sont co-traductionnelles, c'est-à-dire qu'elles sont actives uniquement lorsqu'elles sont recrutées au niveau des ribosomes, comme la Nat B (**Figure 18, B**). Composée de la sous-unité catalytique NAA20 et de la sous-unité d'ancrage ribosomique NAA25, le complexe de la NatB agit de manière co-traductionnelle sur les protéines dont le premier acide aminé (méthionine initiatrice, ou Met_i) est suivi d'un résidu acide ou polaire, typiquement Asp, Glu, Asn ou Gln. L'activité de NatB couvre environ 20% du protéome humain, soulignant son importance fonctionnelle dans le maintien de l'homéostasie protéique. Cette Nat nous intéresse particulièrement car c'est celle responsable de l'acétylation N-terminale de l'AcMet11-Tau, car elle reconnaît le motif E (glutamate), qui suit la 11^{ème} méthionine, dans la séquence de la protéine Tau.

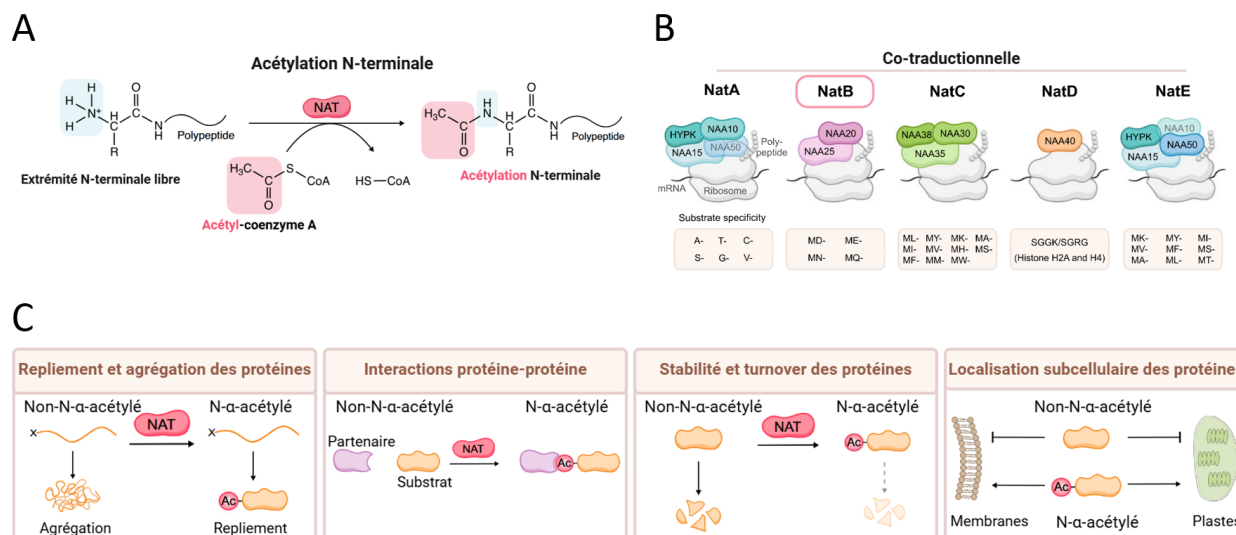


Figure 18 | La N-α-acétylation des protéines.

(A) Les N-terminal acétyltransférases (NAT) catalysent la réaction de transfert d'un groupement acétyle à partir de l'acétyl-coenzyme A vers le groupe α à l'extrémité N-terminale du polypeptide ou de la protéine. (B) Les différentes NAT eucaryotiques qui agissent de manière co-traductionnelle et leurs motifs de reconnaissance. (C) Les différentes fonctions associées à l'acétylation N-terminale. Figure adaptée de (McTiernan et al., 2025)

2.5.2.2 Rôle de la N-α-acétylation

Sur le plan structural, la N-α-acétylation régule le repliement des protéines. En supprimant la charge positive de la partie N-ter, elle stabilise les interactions intramoléculaires, limite les contacts non spécifiques et favorise la conformation native du polypeptide (McTiernan et al., 2025). À l'inverse, son absence peut engendrer des formes partiellement repliées, propices à l'agrégation, comme cela a été démontré pour l'α-synucléine, dont l'acétylation N-terminale stabilise une conformation hélicoïdale non agrégative (Bartels et al., 2014). Ainsi, la N-α-acétylation agit comme un mécanisme de protection contre le mauvais repliement et la formation d'agrégats.

Cette modification joue également un rôle essentiel dans les interactions protéines-protéines, où elle peut servir de motif de reconnaissance spécifique. Le blocage du groupement amine modifie la polarité et la géométrie de la partie N-Ter, conditionnant l'assemblage de complexes multiprotéiques. Par exemple, la N-α-acétylation est indispensable à la formation et à la stabilité des complexes actine-tropomyosine et module les interactions de nombreuses protéines ribosomiques et mitochondriales (Greenfield et al., 1994, 1998; East et al., 2011).

Concernant la stabilité des protéines, la N-α-acétylation agit comme un déterminant majeur de leur turnover cellulaire. En bloquant la partie N-ter, elle peut protéger la protéine de la voie de dégradation « N-degron », mais dans certains cas, elle crée au contraire un signal reconnu par la voie

« Ac/N-degron », menant à l'ubiquitination et à la dégradation par le protéasome (Bachmair et al., 1986; Varshavsky, 2024). Ainsi, selon le contexte et le type de protéine, cette acétylation peut soit stabiliser, soit orienter la protéine vers la dégradation sélective.

Enfin, la N- α -acétylation régule la localisation subcellulaire des protéines. En modulant l'exposition ou le masquage des signaux de transit, elle contrôle le ciblage vers les mitochondries, le réticulum endoplasmique ou les plastes chez les végétaux. Des études ont montré que la perte de certaines NATs, notamment NatC, altère la localisation de protéines mitochondriales et perturbe la bioénergétique cellulaire (Hofmann & Munro, 2006; Starheim et al., 2009). De plus, cette modification contribue à la distribution correcte des protéines cytosoliques et à la prévention de leur agrégation aberrante.

Dans l'ensemble, la N- α -acétylation apparaît comme une modification clé du protéome, agissant sur la conformation, la stabilité, la localisation et les interactions des protéines (**Figure 18, C**). Son dérèglement a été associé à diverses pathologies, notamment les maladies neurodégénératives où un déséquilibre entre acétylation et autres modifications post-traductionnelles pourrait altérer la fonction de protéines essentielles (McTiernan et al., 2025).

2.5.2.3 N- α -acétylation et maladies neurodégénératives

Parmi les mécanismes régulateurs impliqués dans les processus de neurodégénérescence des MND, la N- α -acétylation émerge comme un facteur clé dans le contrôle du repliement, de la stabilité et de l'agrégation des protéines neuronales. Plusieurs études ont mis en évidence qu'une dysfonction des NATs est associée à la pathogenèse de multiples MND (Drazic et al., 2016).

Dans la maladie de Huntington, la protéine Huntingtine (Htt), substrat typique de la Nat A, interagit avec la protéine HYPK (Huntingtin-interacting protein K), un cofacteur agissant comme chaperonne pour prévenir l'agrégation des formes polyglutaminées de Htt (Raychaudhuri et al., 2008). Les travaux d'Arnesen et collaborateurs ont montré que HYPK est essentielle à l'activité de la NatA, et que la réduction de l'expression de HYPK, NAA10 ou NAA15 conduit à une augmentation marquée de l'agrégation d'Htt, établissant un lien direct entre la perte d'acétylation N-terminale et la pathogenèse de la maladie de Huntington (Arnesen et al., 2010). De même, dans la MA, Naa10 interagit avec le domaine cytoplasmique de l'APP (Asaumi et al., 2005). La co-expression de Naa15 a été montrée capable de réduire la sécrétion d'A β , suggérant que le complexe de la Nat A pourrait stabiliser APP et limiter son clivage amyloïdogène. Par ailleurs, la N- α -acétylation régule également le repliement protéique via des chaperonnes moléculaires, comme observé dans la levure où elle influence la

propagation de prions de type [PSI⁺], renforçant l'idée de son rôle dans les processus d'amyloïdogenèse (Holmes et al., 2014). Dans la maladie de Parkinson, la N- α -acétylation de l' α -synucléine, catalysée par la Nat B, joue un rôle protecteur majeur. En effet, cette modification favorise la formation d'une structure α -hélicoïdale stable, empêchant l'agrégation amyloïde et renforçant les interactions protéine-protéine et protéine-membrane (Trexler & Rhoades, 2012; Bartels et al., 2014). Ainsi, la N- α -acétylation apparaît comme un mécanisme susceptible de jouer un rôle important dans la physiopathologie de certaines maladies neurodégénératives.

2.5.3 AcMet11-Tau : forme pathologique de Tau

Les travaux récents menés au sein de notre équipe ont mis en évidence un rôle clé du variant AcMet11-Tau dans le développement de la pathologie Tau. Cette forme tronquée et N- α -acétylée de Tau a été détectée très précocement, dès 3 mois, et augmente avec l'âge, dans le cerveau de souris transgéniques Thy-Tau 22, un modèle bien établi de tauopathie (**Figure 17, B**). Fait remarquable, AcMet11-Tau est détectable avant même le développement de la pathologie Tau et des troubles mnésiques, suggérant qu'elle constitue un événement précoce dans la cascade pathologique. De plus, l'injection stéréotaxique d'un vecteur lentiviral (Lv) exprimant le variant AcMet11-Tau dans le cerveau de souris accentue significativement la pathologie Tau endogène, comme en témoigne l'augmentation du marquage AT100 (**Figure 17, C**) (Guedjda et al., 2025). À l'inverse, une immunothérapie passive ciblant spécifiquement ce variant, à l'aide d'un anticorps monoclonal développé par l'équipe, permet de réduire la charge pathologique de Tau et d'atténuer le déclin cognitif chez ces souris (Guedjda et al., 2025).

Ces résultats positionnent l'AcMet11-Tau comme un acteur très précoce et impliqué dans le développement de la pathologie Tau. Toutefois, les mécanismes conduisant à la génération de ce variant ne sont pas élucidés. Plusieurs hypothèses sont actuellement explorées pour comprendre comment ce variant pathologique de Tau est généré.

2.5.4 AcMet11-Tau : quels sont les mécanismes de génération ?

Plusieurs arguments soutiennent l'hypothèse selon laquelle AcMet11-Tau ne résulterait pas d'un clivage protéolytique classique, comme pour les autres formes tronquées connues de Tau, mais plutôt d'un mécanisme de traduction alternatif. En effet, aucun site consensus reconnu par des protéases telles que les caspases, calpaïnes ou autres enzymes connues pour cliver Tau n'a été identifié à proximité du résidu méthionine 11 dans la séquence de la protéine. Par ailleurs, la présence d'une acétylation N-terminale sur cette forme indique qu'elle serait probablement générée de manière co-

traductionnelle. Cette acétylation N-terminale est certainement réalisée via l'action du complexe de la Nat B, connu pour acétyler les chaînes naissantes commençant par une méthionine suivie d'un glutamate, motif retrouvé dans la séquence de Tau juste après la Met11. De plus, des travaux menés par nos collaborateurs à l'IBMC à Strasbourg ont par ailleurs montré que le codon Met11 peut servir de site alternatif d'initiation de la traduction, notamment lorsque le codon initiateur Met1 est muté, et également lorsqu'un codon stop est ajouté entre le codon de la Met1 et de la Met11. Cela prouve bien que la traduction peut être initiée à partir du codon de la Met11. De manière intéressante, la séquence Kozak entourant Met11 présente une efficacité comparable à celle du codon initiateur canonique Met1, renforçant la plausibilité d'une initiation de la traduction à partir de ce codon Met11.

Ainsi, l'ensemble de ces observations suggère que le variant AcMet11-Tau pourrait être produit par une traduction initiée à partir du codon alternatif Met11, plutôt que par un clivage post-traductionnel. Ce mécanisme, susceptible d'être activé en conditions de stress cellulaire, pourrait constituer un nouveau mode de régulation traductionnelle de Tau, participant à la genèse de formes pathogènes précoces. Dans le chapitre suivant, nous aborderons plus en détail les dérégulations de la traduction et leur rôle potentiel dans la physiopathologie des tauopathies.

Chapitre 3 : Régulation et dérégulation de la traduction : un lien avec Tau et les maladies neurodégénératives

La traduction ou synthèse protéique est un processus biologique fondamental par lequel l'information génétique portée par l'ARN messager (ARNm), transcrit à partir de l'ADN, est décodée en une séquence polypeptidique spécifique, aboutissant à la formation d'une protéine fonctionnelle. Ce processus, hautement conservé au cours de l'évolution, est essentiel à la production des protéines impliquées dans la structure cellulaire, le métabolisme, la signalisation intracellulaire et la régulation de nombreuses fonctions biologiques (Boyarko & Hook, 2021).

1 La Traduction chez les eucaryotes

La traduction est assurée par le ribosome, une machinerie ribonucléoprotéique complexe, en coopération avec divers facteurs, des ARN de transfert (ARN_t) et l'ARNm. Ce processus se déroule en 3 étapes successives : l'initiation, qui établit le cadre de lecture ; l'élongation, qui permet l'ajout séquentiel des acides aminés ; et la terminaison, qui libère le polypeptide néoformé lorsque le ribosome s'arrête au codon stop.

1.1 Le ribosome

Le ribosome constitue la machinerie centrale de la traduction, responsable de la conversion du message génétique porté par l'ARNm en chaîne polypeptidique (Green & Noller, 1997). Sa biogenèse, hautement complexe et finement régulée, s'effectue majoritairement dans le nucléole, où les ARN ribosomaux (ARNr) sont transcrits, repliés et modifiés chimiquement (méthylation, pseudo-uridylation) avant de s'assembler avec les protéines ribosomiques importées du cytoplasme. Les sous-unités pré-ribosomiques sont ensuite exportées dans le cytoplasme, où elles subissent leurs étapes finales de maturation pour devenir fonctionnelles (Broeck & Klinge, s. d.; Vanden Broeck & Klinge, 2024).

Chez les eucaryotes, le ribosome est composé de deux sous-unités : la petite sous-unité 40S, contenant l'ARNr 18S et 33 protéines, et la grande sous-unité 60S, composée des ARNr 28S, 5.8S, 5S et de 46 protéines ribosomiques. Lors de la traduction, la petite sous-unité reconnaît le codon d'initiation AUG sur l'ARNm, puis s'associe à la grande sous-unité pour former le ribosome 80S

fonctionnel. Celui-ci possède trois sites majeurs : site A (Aminoacyl-ARnt), site P (Peptidyl-ARnt) et le site E (Exit), qui orchestrent l'entrée des ARnt porteurs d'acide aminés, la formation des liaisons peptidiques et la libération des ARnt déacylés. Ainsi, le ribosome agit comme un véritable centre catalytique dynamique, garantissant la précision et l'efficacité du décodage de l'information génétique, tout en jouant un rôle central dans la régulation de l'expression protéique et de l'homéostasie cellulaire.

1.2 Initiation de la traduction

Parmi les 3 étapes de la traduction, l'initiation constitue une étape cruciale, qui détermine la précision et l'efficacité du processus de traduction. Comprendre les mécanismes régulateurs de cette étape est fondamental pour appréhender la biologie cellulaire et les dérèglements pathologiques associés à une expression protéique anormale.

1.2.1 Initiation canonique

Chez les eucaryotes, l'initiation de la traduction est un processus hautement régulé, généralement cap-dépendant, impliquant l'assemblage coordonné de la petite sous-unité ribosomique (40S), de l'ARNm coiffé en 5', de l'ARN de transfert initiateur (ARN_t-Met_i), et de multiples facteurs d'initiation de la traduction eucaryote de la famille des eIFs (Eucaryotic Initiation Factors) (*Figure 19*).

La première étape de l'initiation consiste en la formation du complexe ternaire (TC), composé du facteur eIF2, sous sa forme active, c'est-à-dire liée à une molécule de GTP, ainsi que de l'ARN de transfert initiateur portant une méthionine (Met-tRNA_i). Ce complexe s'assemble avec la sous-unité 40S, en présence des facteurs d'initiation eIF3, eIF1, eIF1A et eIF5, pour former le complexe de pré-initiation 43S (PIC). Le facteur eIF3 occupe une position centrale : il stabilise l'association des autres eIFs, empêche la réassociation prématurée avec la grande sous-unité 60S et sert de plateforme d'interaction avec eIF4G lors du recrutement de l'ARNm (Siridechadilok et al., 2005).

En parallèle, le complexe eIF4F, composé de eIF4E, eIF4G et eIF4A, se lie à la coiffe 7-méthylguanosine (m⁷G) à l'extrémité 5' de l'ARNm. Le facteur eIF4E reconnaît directement la coiffe, tandis que eIF4G agit comme un échafaudage liant eIF4E, eIF4A (une hélicase ATP-dépendante) et les protéines liant la queue poly(A) (PABP), favorisant la circularisation de l'ARNm. Cette configuration optimise la stabilité et l'efficacité de la traduction, bien que la circularisation ne soit pas strictement indispensable (Wells et al., 1998).

Une fois formé, le PIC est recruté à l'extrémité 5' de l'ARNm grâce à l'interaction entre eIF3 et eIF4G (LeFebvre et al., 2006). Il commence alors un balayage progressif de la région 5'UTR dans la direction 5'-3', processus appelé scanning, afin d'identifier le codon d'initiation AUG (Pestova & Kolupaeva, 2002). Ce codon doit être situé dans un contexte favorable, la séquence de Kozak (consensus GCC(A/G)CCAUGG), où la présence d'une purine en position -3 et d'une guanine en +4 favorise la reconnaissance (Kozak, 1986, 1987). Le scanning requiert le dépliement des structures secondaires de la région 5'UTR, assuré par l'activité hélicase de eIF4A, stimulée par eIF2B et eIF4G (Pestova & Kolupaeva, 2002). Le facteur eIF1A, localisé au site A du ribosome, stabilise l'ouverture du canal d'entrée de l'ARNm, tandis que eIF1 garantit l'alignement correct du Met-tRNA_i dans le site P et la reconnaissance fidèle du codon d'initiation. Lorsque le codon d'initiation est reconnu, l'hydrolyse du GTP porté par eIF2 est catalysée par eIF5, entraînant la libération coordonnée des facteurs d'initiation et l'association de la grande sous-unité 60S pour former le ribosome 80S fonctionnel. Ce complexe actif va ainsi pouvoir assurer la synthèse protéique avec la phase d'élongation.

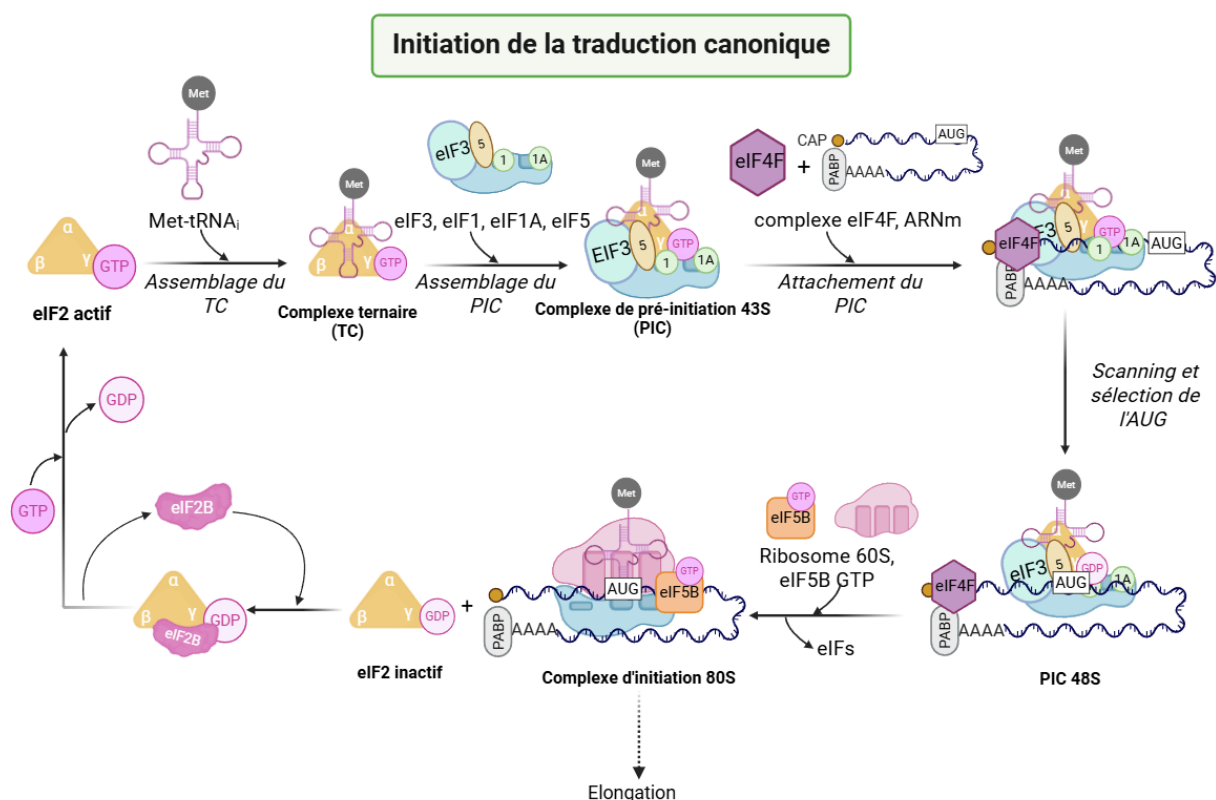


Figure 19 | Schéma illustrant l'initiation de la traduction canonique.

Figure faite sur Biorender.

Enfin, ce processus dépend du recyclage du facteur eIF2, qui, après hydrolyse du GTP, est inactif sous forme eIF2-GDP. L'échange du GDP contre du GTP, catalysé par le facteur d'échange eIF2B,

permet à eIF2 de participer à de nouveaux cycles d'initiation. Ce point constitue une étape cruciale de la régulation traductionnelle, notamment en réponse aux stress cellulaires, où la phosphorylation d'eIF2 α inhibe globalement la synthèse protéique tout en favorisant la traduction sélective de certains ARNm, comme nous le verrons dans la section suivante.

1.2.2 Initiation de la traduction non-canonique

Outre la voie canonique cap-dépendante, il existe plusieurs mécanismes non canoniques d'initiation de la traduction permettant à certains ARNm d'être traduits lorsque la machinerie classique est inhibée, notamment lors de stress cellulaires, de réponses développementales ou d'infections virales (James & Smyth, 2018; Sorokin et al., 2021) (**Figure 20**). Ces voies alternatives contournent généralement l'étape de scanning ou l'utilisation classique de la coiffe 5', et contribuent ainsi à une reprogrammation sélective du protéome adaptée aux conditions physiopathologiques.

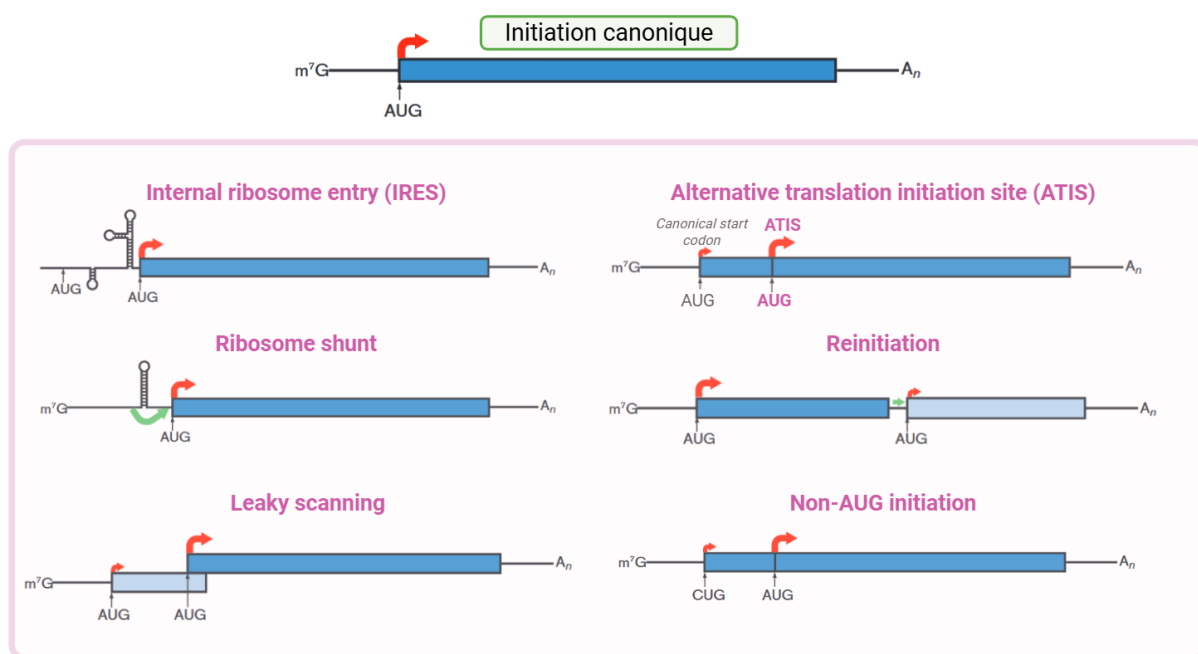


Figure 20 | Représentation schématique des mécanismes d'initiation non canoniques de la traduction.

Adaptée de (Firth & Brierley, 2012).

L'un des mécanismes les mieux caractérisés repose sur les IRES (*Internal Ribosome Entry Sites*), découverts chez les virus. Ce sont des éléments structuraux situés dans la région 5'UTR permettant le recrutement direct du ribosome à proximité du codon d'initiation, indépendamment de la coiffe

(Pelletier & Sonenberg, 1988; Godet et al., 2019). D'autres ARNm utilisent le mécanisme du ribosome shunt, dans lequel le ribosome, après s'être fixé à la coiffe, saute une région hautement structurée pour reprendre la lecture plus en aval, sans nécessiter d'activité hélicase (Yueh & Schneider, 2000). Le leaky scanning constitue un autre mode d'initiation, où le complexe 43S ignore des codons AUG situés dans un contexte Kozak défavorable, poursuivant son balayage jusqu'à un site plus propice (Kozak, 1991). De manière similaire, certains ARNm peuvent initier la traduction à partir de codons non-AUG (comme CUG ou GUG), conduisant à la production d'isoformes protéiques alternatives ou alors à partir d'un site alternatif d'initiation de la traduction (ATIS), produisant des protéines tronquées dans leur partie N-terminale (Bogaert et al., 2020). Ces formes N-tronquées issues d'un ATIS seront abordées plus en détail dans la partie dérégulations de la traduction. Un mécanisme fréquent de régulation traductionnelle est également la réinitiation, où la petite sous-unité ribosomique 40S, après avoir traduit un petit cadre de lecture ouvert (*upstream ORF*, ou *uORF*), conserve certains facteurs d'initiation pour redémarrer la traduction plus en aval (Yamasaki & Anderson, 2008).

Certains transcrits, tels que les ARNm TISU (Translation Initiation of Short 5'UTR), utilisent encore une autre stratégie : leur région 5'UTR, très courte (<15 nucléotides), permet une initiation directe sur le codon AUG sans étape de scanning, tout en restant cap-dépendante (Elfakess et al., 2011; Elfakess & Dikstein, 2008; Haimov et al., 2017). Ce mécanisme, particulièrement robuste en conditions de stress, permet le maintien de la synthèse de protéines essentielles lorsque la voie canonique est compromise.

Ces modes d'initiation non canoniques témoignent de la plasticité remarquable de la traduction eucaryote, permettant à la cellule de maintenir la production de protéines critiques dans des contextes où la voie cap-dépendante est inhibée.

1.2.3 Régulation de l'initiation de la traduction par des éléments *cis*- et *trans*-régulateurs

La régulation de la traduction repose sur une interaction étroite entre des éléments *cis* et des facteurs *trans*, dont l'action est particulièrement cruciale lors de l'étape d'initiation, principal point de contrôle de la synthèse protéique (Tidu & Martin, 2024).

Les éléments régulateurs *cis* de l'initiation de la traduction peuvent être situés soit dans les régions non traduites 5' et 3'UTR, soit dans la région codante de l'ARNm. Ils correspondent à des séquences ou structures intrinsèques à l'ARNm lui-même, comme la coiffe 5', la région 5'UTR, les structures secondaires, les upstream ORFs, des IRES, et encore des séquences riches en GC, qui influencent le recrutement des ribosomes (Sonenberg & Hinnebusch, 2009; Tidu & Martin, 2024). Ces

motifs influencent directement la capacité du ribosome à reconnaître le codon d'initiation et à s'assembler correctement sur l'ARNm.

La longueur de la région 5'UTR des ARNm constitue également un facteur déterminant dans la régulation de la traduction. Comme décrit précédemment, certains ARNm, tels que les TISU, possédant une région 5'UTR très courte, peuvent être traduits via des mécanismes d'initiation alternatifs.

Nos collaborateurs de l'IBMC à Strasbourg se sont particulièrement intéressés à l'influence de la taille de la région 5'UTR sur la traduction de Tau, sur la base de travaux antérieurs, qui ont mis en évidence, dans des cerveaux de patients atteints de la MA, plusieurs formes d'ARNm de Tau présentant des régions 5'UTR plus courtes (-160, -54, -47, -35, -7, +90, +160 et +201), absentes chez les sujets contrôles (Huin et al., 2017). Nos collaborateurs ont récemment démontré que ces transcrits avec des 5'UTR plus courtes présentaient une augmentation de leur activité traductionnelle, suggérant que la réduction de la taille de cette région favorise une initiation plus efficace de la traduction de Tau (da Costa et al., 2024).

En parallèle, les facteurs *trans* correspondent à des protéines ou complexes ribonucléoprotéiques, tels que les facteurs d'initiation (eIFs), les protéines liant l'ARN (RBPs) ou les microARN, qui interagissent avec ces éléments *cis* pour moduler le recrutement du ribosome, la formation du complexe d'initiation 43S et la stabilité de l'ARNm (Harvey et al., 2018; Fukao et al., 2021).

Cette coordination entre les éléments régulateurs *cis* et *trans* permet une sélectivité fine de l'initiation de la traduction, autorisant certaines protéines à être traduites préférentiellement selon l'état physiologique ou pathologique de la cellule, notamment en réponse au stress ou à des signaux de différenciation.

1.3 Elongation

L'élongation correspond à l'étape durant laquelle la chaîne polypeptidique est synthétisée par l'ajout successif d'acides aminés, guidée par la lecture codon par codon de l'ARNm. Ce processus est assuré par le ribosome 80S, en coopération avec les facteurs d'élongation eucaryotes (eEFs) et les ARNt aminoacylés (Dever & Green, 2012; Xu et al., 2021). Chaque cycle d'élongation commence par la reconnaissance du codon situé dans le site A du ribosome par un ARNt chargé de l'acide aminé correspondant. Ce processus est médié par le facteur eEF1A lié au GTP, qui guide l'ARNt aminoacylé au site A. En cas d'appariement correct entre le codon de l'ARNm et l'anticodon de l'ARNt, le GTP est

hydrolysé, entraînant la libération de eEF1A et l'insertion de l'ARNt dans le site A. Une fois les deux ARNt correctement positionnés dans les sites P (peptidyl) et A, une liaison peptidique est formée entre l'acide aminé porté par l'ARNt du site A et la chaîne polypeptidique en cours d'élongation portée par l'ARNt du site P. Cette réaction, catalysée par l'activité peptidyl-transférase du ribosome (fonction de l'ARNr 28S), allonge le polypeptide d'un résidu. Enfin, le ribosome est transloqué le long de l'ARNm d'un codon dans le sens 5'→3', sous l'action du facteur eEF2, couplée à une hydrolyse du GTP. Cette translocation repositionne l'ARNt vide dans le site E (exit), d'où il sera éjecté, et libère le site A pour l'entrée du prochain ARNt aminoacylé, amorçant un nouveau cycle d'élongation. Ce mécanisme hautement efficace permet l'ajout de plusieurs acides aminés par seconde.

1.4 Terminaison

La terminaison de la traduction survient lorsque le ribosome rencontre un codon stop (UAA, UAG ou UGA) dans le site A de l'ARNm. Aucun ARNt ne reconnaissant ces codons, ils sont interprétés comme des signaux d'arrêt. Cette étape mobilise des facteurs de terminaison spécifiques, principalement eRF1 et eRF3 chez les eucaryotes. Le facteur eRF1 reconnaît les codons stop et s'insère dans le site A du ribosome, imitant la structure d'un ARNt. En association avec eRF3 lié au GTP, il déclenche l'hydrolyse du lien ester entre la chaîne polypeptidique et l'ARNt présent dans le site P, libérant ainsi la protéine néoformée dans le cytoplasme. L'hydrolyse du GTP porté par eRF3 entraîne la dissociation des facteurs de terminaison, puis la séparation des deux sous-unités ribosomiques, de l'ARNm et de l'ARNt, permettant ainsi le recyclage des composants du ribosome pour de nouveaux cycles de traduction (Dever & Green, 2012). Ce processus de terminaison est également un point clé de régulation et peut être modulé dans des contextes physiopathologiques, notamment lors de la réponse au stress ou dans certaines maladies neurodégénératives.

2 Dérégulations de la traduction

2.1 Rôle clé de l'initiation dans la régulation de la traduction

L'initiation de la traduction constitue la phase limitante de la synthèse protéique et représente le principal point de régulation. Elle repose sur l'action coordonnée de plusieurs éléments : l'ARNm, les ARNt, les ARNr et un ensemble de facteurs d'initiation eIFs, qui orchestrent l'assemblage du complexe d'initiation. Ces acteurs travaillent en synergie pour garantir une synthèse protéique fine et régulée. Toute altération de ce processus peut avoir des conséquences majeures sur la physiologie cellulaire. Ainsi, des modifications post-traductionnelles ou mutations des eIFs, des anomalies de la biogenèse ribosomique, ou encore des dysfonctionnements des ARNt (mauvaise aminoacylation,

défaut de maturation ou de modifications chimiques) peuvent perturber la traduction et être à l'origine de pathologies variées, notamment hématologiques et neurodégénératives.

Chez les eucaryotes, la présence de la coiffe en 5' de l'ARNm est essentielle à la reconnaissance du message et au déclenchement de la traduction. Le facteur eIF4E, protéine de liaison à la coiffe, joue un rôle central dans l'initiation cap-dépendante, en recrutant le complexe eIF4F (eIF4E, eIF4G et eIF4A). Ce complexe permet le recrutement du ribosome et l'amorçage de la traduction. Des altérations de la structure de la coiffe ou des protéines qui s'y associent peuvent compromettre ce processus et perturber la régulation de l'expression protéique. Par exemple, des MPT sur eIF4E, notamment la phosphorylation du résidu Ser209, sont connues pour favoriser l'initiation de la traduction (Amorim et al., 2018). Le principal mécanisme de régulation d'eIF4E implique les protéines liant eIF4E (4EBP), qui se fixent sur eIF4E et empêchent son interaction avec eIF4G, bloquant ainsi la formation du complexe eIF4F et inhibant l'initiation. Certaines de ces protéines, comme CYFIP1 (cytoplasmic FMR1-interacting protein 1), peuvent recruter la protéine FMRP (fragile X mental retardation protein) pour constituer un complexe répressif qui diminue l'initiation de la traduction (Napoli et al., 2008). Mais l'activation de voies de signalisation telles que mTORC1 induit la phosphorylation des 4EBP, entraînant leur dissociation d'eIF4E et favorisant la formation du complexe eIF4F, ce qui stimule la traduction. En situation de stress, l'inactivation de mTORC1 entraîne la déphosphorylation des protéines 4EBP, qui vont séquestrer eIF4E et l'empêcher d'entrer dans le complexe eIF4F et, par conséquent, entraîner l'inhibition du recrutement du complexe de pré-initiation sur la coiffe (Richter & Sonenberg, 2005).

Un autre facteur d'initiation de la traduction, eIF2, joue un rôle clé dans la régulation de l'initiation, en fonction de l'état de phosphorylation de sa sous-unité α (eIF2 α). En effet, comme vu précédemment dans l'initiation canonique, sous forme active, lié à une molécule de GTP, eIF2 va permettre la formation des TC et ainsi l'assemblage du PIC. Le recyclage de sa forme inactive (eIF2-GDP) à sa forme active (eIF2-GTP) est médié par eIF2B. Or, lorsque eIF2 α est phosphorylé sur son résidu Ser51, cela va inhiber sa dissociation avec eIF2B et ainsi réduire son recyclage sous forme GTP et sa disponibilité pour la formation des TC et va ainsi induire une inhibition de la synthèse protéique. La phosphorylation de eIF2 α est au cœur d'une voie de réponse au stress : la Réponse Intégrée au Stress (ISR).

2.2 La réponse intégrée au stress

La phosphorylation de eIF2 α constitue le noyau central de la réponse intégrée au stress (Integrated Stress Response, ISR), un réseau de signalisation conservé au cours de l'évolution

permettant aux cellules de maintenir leur homéostasie face à différents stress. Cette voie repose sur quatre kinases spécifiques sensibles à divers stress et capables de phosphoryler eIF2 α afin de réduire la traduction globale (**Figure 21**).

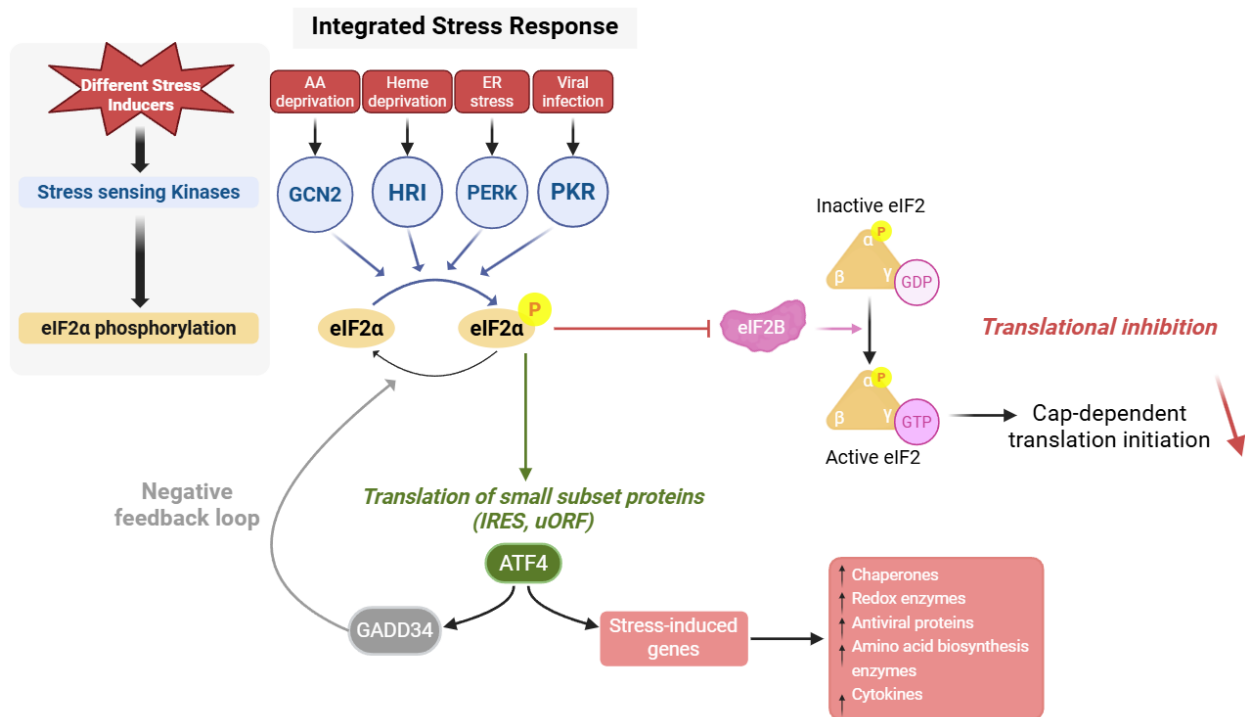


Figure 21 | Schéma de la réponse intégrée au stress.

Différents signaux de stress activent quatre kinases spécifiques sensibles au stress (GCN2, HRI, PERK et PKR), qui convergent vers la phosphorylation d'eIF2 α . Cela va entraîner une inhibition de la traduction cap-dépendante, en limitant le recyclage du complexe eIF2-GTP par eIF2B. Cependant, certains ARNm spécifiques tels qu'ATF4 vont être traduits par des mécanismes alternatifs d'initiation. ATF4 active ensuite la transcription de gènes de réponse au stress, y compris GADD34, qui rétablit la traduction normale via la déphosphorylation d'eIF2 α , constituant une boucle de rétrocontrôle négatif. Figure faite sur Biorender.

La kinase PKR (double-stranded RNA-dependent protein kinase), initialement identifiée comme activée lors d'infections virales (García et al., 2006), peut également être stimulée par le stress du réticulum endoplasmique (RE), le stress oxydatif (Li et al., 2010), une forte concentration en glucose (Udumula et al., 2017) ou encore un stress métabolique (Nakamura et al., 2015). La kinase PERK (PKR-like ER kinase), une protéine transmembranaire du RE, est activée principalement par l'accumulation de protéines mal conformées ou dépliées dans la lumière du RE (Donnelly et al., 2013). La kinase GCN2 (General Control Nonderepressible 2) est, quant à elle, activée en réponse à une privation en acides

aminés via la liaison à des ARNt désacylés, mais aussi par l'irradiation UV ou la privation en glucose (Deng et al., 2002; de la Cadena et al., 2014). Enfin, la kinase HRI (Heme-Regulated Inhibitor) peut être activée par de multiples stimuli, tels que le stress oxydatif, le stress osmotique, le choc thermique ou encore l'inhibition du protéasome (Girardin et al., 2021).

L'ensemble de ces kinases converge vers la phosphorylation d'eIF2 α , entraînant une inhibition du mécanisme général de la traduction cap-dépendante, via la diminution des TC eIF2-GTP-Meti-ARNt disponibles. Cette inhibition permet de réduire la synthèse protéique globale afin d'économiser les ressources cellulaires et de limiter l'accumulation de protéines mal conformées.

En parallèle, certains ARNm sont insensibles au stress et vont être traduits via des mécanismes alternatifs, comme l'ARNm de ATF4 (Activating Transcription Factor 4). En conditions basales, la présence de deux uORF dans sa région 5'UTR empêche la traduction du cadre principal d'ATF4. Mais lors d'un stress, la phosphorylation d'eIF2 α ralentit le rechargement du ribosome en TC, ce qui permet au ribosome de continuer le scanning sans réinitier sur l'uORF2, mais sur le vrai codon AUG d'ATF4, situé plus loin en aval (Vattem & Wek, 2004; N. Wei et al., 2015). Ainsi, la synthèse d'ATF4 est augmentée lorsque la traduction globale est inhibée, ce qui en fait un bon marqueur de l'ISR.

Une fois traduit, ATF4 agit ensuite comme un facteur de transcription clé de l'ISR. Il régule un large réseau de gènes impliqués dans le rétablissement de l'homéostasie cellulaire (comme des chaperonnes, des enzymes redox, des cytokines...), le métabolisme des acides aminés, la réponse antioxydante, et, en cas de stress prolongé, l'activation de la voie apoptotique. Parmi ses cibles majeures, ATF4 va réguler l'expression de GADD34 (Growth Arrest and DNA Damage-inducible protein 34), codée par le gène *PPP1R15A* (Y.-Y. Lee et al., 2009; Novoa et al., 2001). GADD34 forme un complexe avec la protéine phosphatase 1 (PP1), qui déphosphoryle eIF2 α sur le résidu Ser51, permettant ainsi la récupération progressive de la traduction une fois le stress atténué. Ce mécanisme constitue une boucle de rétrocontrôle négatif, essentielle à la résolution de l'ISR.

Outre GADD34, ATF4 va également induire l'expression de CHOP (C/EBP Homologous Protein, ou DDIT3), un facteur pro-apoptotique activé lorsque le stress persiste, menant à l'activation de caspases et à la mort cellulaire. ATF4 régule également des gènes impliqués dans la synthèse et le transport des acides aminés (comme *ASNS*, *SLC7A5*), la réponse au stress oxydatif (*S2SN2*, *TRB3*) (Harding et al., 2003), ou encore la mitophagie et la biogenèse mitochondriale (Kasai et al., 2019).

Ainsi, la voie ATF4 constitue une réponse adaptative majeure de la cellule en réponse au stress, en promouvant la survie et la réparation lorsque le stress est transitoire, mais peut déclencher des processus de mort cellulaire lorsque le stress devient chronique (Neill & Masson, 2023).

Une activation chronique de l'ISR, associée à une dérégulation de la traduction des protéines, est retrouvée dans un certain nombre de pathologies comme les MND, dont la MA.

2.2.1 Activation chronique de la réponse intégrée au stress dans la maladie d'Alzheimer et autres maladies neurodégénératives

L'ISR joue un rôle majeur dans le vieillissement et dans de nombreuses maladies neurodégénératives (Moon et al., 2018). En effet, des marqueurs de stress oxydatif, de stress du RE, de stress protéotoxique et de neuroinflammation sont fréquemment observés dans des pathologies telles que la maladie d'Alzheimer (MA), la maladie de Parkinson (MP), la sclérose latérale amyotrophique (SLA), la démence fronto-temporale (DFT) et la maladie de Huntington (MH) (Bond et al., 2020; S. Wang & Sun, 2023; Bravo-Jimenez et al., 2025). Une augmentation ou une dérégulation de la phosphorylation de eIF2 α a été largement associée à ces maladies (Costa-Mattioli & Walter, 2020).

Dans la MA, l'ISR est particulièrement impliquée dans la réponse au stress du réticulum endoplasmique (RE) et au stress protéotoxique induit par l'accumulation de peptides A β et de protéines Tau hyperphosphorylées. Des analyses post-mortem de cerveaux de patients ont révélé une surexpression de la kinase PERK et de p-eIF2 α dans l'hippocampe et le cortex frontal, témoignant d'une activation chronique de l'ISR (Katayama et al., 2004). De plus, dans des modèles animaux tels que les souris P301L et rTg4510, qui développent des agrégats de Tau humains, présentent également une augmentation de p-eIF2 α et d'ATF4, accompagnée d'une diminution de la synthèse protéique et de troubles mnésiques précoces (Y.-S. Ho et al., 2012; Radford et al., 2015a). Ainsi, il a été montré que la phosphorylation d'eIF2 α est associée à la dégénérescence neuronale dans la MA (R. C. C. Chang et al., s. d.; Moon et al., 2018). De plus, dans des modèles de souris de la MA, comme les souris APP/PS1, la suppression de la kinase PERK ou GCN2 empêche l'augmentation de la phosphorylation d'eIF2, ainsi que les déficits de synthèse protéique, de plasticité synaptique et de mémoire spatiale (Ma et al., 2013). D'autres branches de l'ISR participent également à la physiopathologie de la MA. La PKR, activée par les peptides A β via des perturbations calciques, peut directement phosphoryler Tau et réguler son expression (R. C.-C. Chang et al., 2002). Son inhibition réduit la phosphorylation de Tau dans des modèles murins, suggérant un rôle clé dans la convergence entre ISR et pathologie Tau (Reimer et al., 2021). En revanche, la kinase GCN2, activée par la privation en acides aminés, semble jouer un rôle secondaire dans la MA (Devi & Ohno, 2013). Par ailleurs, des altérations de la réponse au stress mitochondrial (UPRmt), en lien avec la signalisation de l'ISR, sont observées dans des cerveaux humains Alzheimer, où elles contribuent à la perte de fonction mitochondriale et à l'aggravation du stress oxydatif (Beck et al., 2016).

Au-delà de la MA, l'ISR est également impliquée dans d'autres maladies neurodégénératives. Dans la maladie de Parkinson, l'activation de la voie PERK–ATF4–CHOP participe à la dégénérescence des neurones dopaminergiques exposés à l' α -synucléine (Hoozemans et al., 2007). De manière intéressante, l'acétylation de la PERK ou son inhibition pharmacologique par le GSK2606414 préserve la fonction mitochondriale et améliore la motricité dans des modèles murins (Mercado et al., 2018). De même, dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA), une activation chronique d'eIF2 α phosphorylé et de la voie ATF4-CHOP a été observée dans les motoneurones, contribuant à la perte neuronale et à la progression de la maladie (Ilieva et al., 2007; S. Wang & Sun, 2023).

Dans l'ensemble, la voie de la réponse intégrée au stress apparaît comme un régulateur central de l'homéostasie protéique neuronale (D. Y. Lee et al., 2010). Si son activation ponctuelle est essentielle à la survie cellulaire, son activation chronique dans le cerveau vieillissant constitue un facteur aggravant majeur des processus neurodégénératifs, notamment dans la MA. Ces observations positionnent l'ISR comme une cible thérapeutique prometteuse, dont la modulation fine pourrait restaurer l'équilibre entre protection cellulaire et maintien des fonctions cognitives.

2.2.2 Modulation pharmacologique de la réponse intégrée au stress

La modulation pharmacologique de la réponse intégrée au stress (ISR) représente une approche prometteuse pour restaurer l'homéostasie protéique et prévenir la dégénérescence neuronale. Conformément à cette idée, plusieurs études ont montré qu'une inhibition partielle et transitoire de l'ISR pouvait avoir un effet neuroprotecteur (Sidrauski et al., 2013; Halliday et al., 2015; M. J. Derisbourg et al., 2021). L'ISRIB (Integrated Stress Response Inhibitor), une petite molécule capable d'inverser les effets de la phosphorylation d'eIF2 α en stabilisant le complexe eIF2B, permet de rétablir la traduction protéique et les fonctions cognitives altérées (Sidrauski et al., 2015). Des travaux réalisés chez des souris modèles de la maladie d'Alzheimer (MA) ont montré que le traitement par ISRIB améliore la mémoire spatiale et la mémoire de travail, tout en réduisant l'activation de l'ISR et l'inflammation neuronale (Halliday et al., 2017; Krukowski et al., 2020). De manière similaire, un traitement transitoire chez des souris âgées restaure la fonction neuronale et la plasticité synaptique, ramenant les performances cognitives à des niveaux comparables à ceux d'animaux jeunes. Cependant, toutes les données ne vont pas dans le même sens. Certaines études suggèrent qu'une activation modérée de PERK pourrait, au contraire, être protectrice : elle favorise la survie neuronale via l'induction de chaperones du réticulum endoplasmique (comme Grp78/BiP) et réduit la pathologie Tau dans les modèles P301S, en améliorant la mémoire et la densité des épines dendritiques (Halliday et al., 2017; Mercado et al., 2018).

Au-delà de la MA, le blocage de l'ISR, par des approches génétiques ou pharmacologiques, s'est également révélé bénéfique dans d'autres modèles de maladies neurodégénératives, notamment la maladie de Parkinson, la maladie à prions et la sclérose latérale amyotrophique (SLA), où il permet de réduire la mort neuronale et le stress protéotoxique (Mercado et al., 2018). L'inhibition ciblée de PERK par le composé GSK2606414 produit des effets similaires : elle restaure partiellement la traduction, diminue l'expression d'ATF4 et réduit la neurodégénérescence hippocampique dans des modèles murins de pathologie Tau (Radford et al., 2015a).

Ces observations montrent que l'effet de l'ISR dépend de son intensité et de sa durée d'activation : une activation transitoire contribue à restaurer l'équilibre protéique et la survie neuronale, tandis qu'une activation chronique devient délétère et participe à la progression des maladies neurodégénératives.

2.3 Génération de formes tronquées en N-terminales

La traduction des protéines ne débute pas toujours au codon d'initiation canonique situé à l'extrémité 5' de l'ARNm. Dans de nombreuses conditions, notamment en réponse au stress cellulaire, des sites alternatifs d'initiation de la traduction (ATIS) peuvent être utilisés, conduisant à la production de formes N-terminales tronquées d'une même protéine, ce qui peut modifier leur localisation subcellulaire, leur stabilité ou leurs interactions avec d'autres partenaires (Bogaert et al., 2020).

Des exemples bien caractérisés illustrent la portée fonctionnelle de ce phénomène. La protéine p53, par exemple, possède plusieurs isoformes issues de traductions alternatives, notamment $\Delta 40$ p53 (ou DeltaN-p53) qui débute au codon de la méthionine 40 (Courtois et al., 2002). Ces formes tronquées présentent des propriétés distinctes : $\Delta 40$ p53 conserve l'activité de liaison à l'ADN mais perd une partie du domaine transactivateur, modulant ainsi la réponse au stress et à l'apoptose (Yin et al., 2002). De même, la traduction alternative de RUNX1, à partir d'un codon interne, génère un variant N-tronqué conservant une activité de régulation de l'hématopoïèse, bien que dépourvu du domaine N-terminal canonique (Goyama et al., 2019). Dans le cas de caveoline-2, une traduction initiée en aval du codon principal produit une isoforme tronquée à la région N-terminale, modifiant son ancrage membranaire et ses interactions avec caveoline-1 (Kwon et al., 2018).

Ces observations montrent que l'initiation alternative constitue un mécanisme de diversification protéique post-transcriptionnelle, souvent régulé par le contexte Kozak local, les structures secondaires de la région 5'UTR ou la disponibilité des facteurs d'initiation. Dans les cellules stressées, où l'initiation canonique cap-dépendante est freinée, ces sites alternatifs peuvent devenir

préférentiels, favorisant la production de formes N-tronquées adaptatives ou pathogènes (Bogaert et al., 2020).

Ce mécanisme est particulièrement pertinent dans le cadre des maladies neurodégénératives, où le stress et la phosphorylation d'eIF2 α perturbent le contrôle de l'initiation. Ainsi, la découverte récente de formes N-tronquées de Tau, telles qu'AcMet11-Tau, s'inscrit dans cette dynamique : elles pourraient résulter d'une initiation alternative à partir du codon de la Met11, activée dans des conditions de stress, conduisant à l'expression d'une isoforme N- α -acétylée sur sa méthionine 11, dotée de nouvelles propriétés fonctionnelles.

OBJECTIFS DE LA THÈSE

Une nouvelle forme tronquée pathologique de Tau, nommée AcMet11-Tau, a été identifiée dans les cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (MA), via une approche protéomique dans une étude s'intéressant aux formes tronquées de Tau en N-terminale. Ce nouveau variant est également détecté précocement dans des modèles murins de la pathologie Tau, avant même le développement de la pathologie Tau et des troubles mnésiques. Dans ces mêmes modèles, il a été montré que ce variant est impliqué dans le développement de la pathologie Tau et dans le déclin cognitif associé. Cependant, les mécanismes sous-jacents de sa génération restent encore inconnus.

De nombreuses études ont mis en évidence une altération profonde du contrôle de la traduction, caractérisée par une activation chronique de la réponse intégrée au stress. Cette activation prolongée, marquée notamment par la phosphorylation persistante d'eIF2 α , conduit à une inhibition globale de la synthèse protéique tout en favorisant la traduction sélective de certains ARNm via des mécanismes alternatifs. Ces changements adaptatifs, bénéfiques à court terme, deviennent délétères lorsqu'ils s'installent de manière chronique, participant à la dysfonction synaptique, à la neurodégénérescence et à la progression de pathologies telles que le MA, la maladie de Parkinson ou encore la SLA. Dans ce contexte, la dérégulation de la traduction apparaît également comme un mécanisme clé de génération de variants tronqués, notamment des formes N-tronquées issues d'un site alternatif d'initiation de la traduction (ATIS). Ces isoformes atypiques, décrites pour plusieurs protéines, peuvent présenter des propriétés structurales et fonctionnelles altérées, favorisant leur toxicité.

Sur la base de ces données de la littérature et de certains résultats préliminaires de travaux en collaboration avec l'équipe du Dr Franck Martin à l'IBMC de Strasbourg, mon travail de thèse s'est basé sur l'hypothèse que des mécanismes en lien avec la dérégulation de la traduction, dans des conditions d'activation de la Réponse Intégrée au stress (ISR), seraient responsables de la génération du variant AcMet11-Tau à partir d'un site alternatif d'initiation de la traduction (ATIS).

L'objectif principal de ce travail est de démontrer que la production d'AcMet11-Tau est bien liée à une traduction alternative de Tau, en étudiant dans différents modèles expérimentaux l'impact de l'ISR sur la génération de ce variant de Tau et sa pertinence pour la pathologie Tau. Ce travail est donc divisé en 2 objectifs :

(1) AcMet11-Tau est-elle générée par traduction dans des modèles cellulaires de stress ? Afin de répondre à cette question, des modèles cellulaires d'ISR induite par l'Arsénite de sodium (AS) ont été développés afin d'étudier le rôle de l'ISR sur la production d'AcMet11-Tau. La première partie de cette étude est réalisée dans un modèle cellulaire d'expression inductible de Tau (SH-SY5Y/TR Tau) afin de mettre au point les traitements de stress. La deuxième partie de l'étude s'est focalisée sur la validation des résultats à partir du gène endogène de Tau dans les cellules LUHMES.

(2) Quel est l'effet de l'ISR sur la génération d'AcMet11-Tau *in vivo* et la pathologie Tau ?

Pour cela, des souris transgéniques THY-Tau 22, dans lesquelles le variant AcMet11-Tau est détecté précocement, ont été exposées de manière chronique à l'AS. Les souris sont ensuite caractérisées sur le plan cognitif, ainsi que pour l'induction de l'ISR, la production d'AcMet11-Tau et la pathologie Tau.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1 Culture cellulaire

1.1 Lignée cellulaire SH-SY5Y/TR-Tau

1.1.1 Description de la lignée

La lignée cellulaire stable SH-SY5Y/TR-Tau, dérivée de la lignée SH-SY5Y issue d'un neuroblastome humain, permet l'expression inducible par la tétracycline (système T-REX, Invitrogen) de l'isoforme 1N4R (412 AA) de la protéine Tau humaine. Cette lignée stable a été développée avant mon arrivée au laboratoire, par transfection avec des vecteurs d'expression inducibles contenant la séquence codante de l'isoforme 1N4R de la protéine Tau (Bretteville et al., 2009; Hamdane et al., 2003; Mailliot et al., 2000).

1.1.2 Entretien de la lignée

Après décongélation, les cellules sont traitées avec un agent anti-mycoplasme (MRA, 50 µg/mL ; MP Biomedicals) pendant 7 jours dans des flasques de culture (T75 ; Starstedt). Les cellules sont incubées dans une étuve à 37 °C, sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et 90% d'humidité. Le milieu de culture est renouvelé tous les 2-3 jours.

Les cellules sont cultivées dans du Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, [+] glucose, [+] pyruvate ; Gibco) supplémenté en sérum de veau fœtal (10 % ; Gibco), L-glutamine (2 mM ; Thermo Scientific), AA non essentiels (1 mM ; Gibco), ainsi qu'en pénicilline/streptomycine (50 U/mL ; Gibco). La pression sélective est maintenue par l'ajout périodique de blasticidine (0,5 µg/mL ; Gibco) et de zéocine (10 µg/mL ; Gibco) dans le milieu de culture lors des passages.

Lorsque les cellules atteignent la confluence, elles sont divisées et ensemencées selon la procédure suivante : un rinçage est d'abord effectué avec une solution de PBS (Phosphate Buffer Saline), suivi de l'ajout d'une solution de trypsine-EDTA afin de détacher les cellules de leur support. L'action enzymatique est ensuite neutralisée par l'ajout de milieu de culture complet, et les cellules sont dissociées mécaniquement par des allers-retours avec la pipette. Ensuite, elles sont ensemencées selon les conditions spécifiques à chaque protocole expérimental. L'expression du transgène Tau est induite par l'ajout de tétracycline au milieu de culture (1 µg/mL ; Invitrogen).

1.2 Lignée cellulaire LUHMES

1.2.1 Description de la lignée

La lignée cellulaire humaine LUHMES (Lund Human Mesencephalic cells) est dérivée de cellules progénitrices neuronales mésencéphaliques fœtales et est un sous-clone de la lignée MESC2.10,

initialement caractérisée par l'Université de Lund (Lotharius et al., 2002b). Sous l'action combinée de la tétracycline, du GDNF (Glial cell line-derived neurotrophic factor) et de l'AMPc (cyclic adenosine monophosphate), les LUHMES peuvent être différenciées en neurones dopaminergiques post-mitotiques, morphologiquement et biochimiquement matures (Lotharius et al., 2005).

1.2.2 Entretien de la lignée

Après décongélation, les cellules sont cultivées dans une étuve à 37 °C, sous une atmosphère contrôlée à 5 % de CO₂ et 90 % d'humidité, dans des flasques de culture (T75 ; Nunclon) pré-coatée une nuit à 37- °C avec de la poly-L-Ornithine (50 µg/mL ; Sigma), fibronectine bovine (1 µg/mL ; Sigma) et eau stérile de culture (Cell culture Grade Water ; Dutscher). La flasque est ensuite rincée 2 fois à l'eau stérile de culture.

Les cellules sont cultivées dans du milieu de prolifération : Dulbecco's Modified Eagle Medium : Nutrient Mixture F12 (DMEM/F12 ; Gibco), supplémenté en L-Glutamine (2 mM ; Thermo Scientific), en N-2 supplement (1X ; Thermo Scientific) et en b-FGF (Recombinant Human FGF basic, 40 ng/mL ; Bio-Techne). Pour différencier cette lignée, $2,5 \times 10^6$ cellules en prolifération sontensemencées dans des flasques T75 avec du milieu de prolifération après avoir été décollées enzymatiquement avec de la trypsine (Gibco). Après 24 h, le milieu de prolifération est remplacé par du milieu de différenciation : DMEM/F12 (Gibco), L-Glutamine (2 mM ; Thermo Scientific), N-2 supplement (1X ; Thermo Scientific), AMPc (1 mM ; Sigma), tétracycline (1 µg/mL ; Merck) et GDNF (2 ng/mL ; Bio-Techne). Cela correspond au jour 0 de différenciation. À J4, la prédifférenciation est terminée, les cellules sont décollées avec la trypsine et réensemencées en plaques 6 puits ($1,1 \times 10^5$ cellules/puits) ou 12 puits ($5,5 \times 10^5$ cellules/puits) préalablement coatées (décrit précédemment). La différenciation continue jusqu'à J6, J8, J9 ou J10. Le milieu de différenciation est renouvelé tous les 2-3 jours.

1.3 Traitements cellulaires

Stress cellulaire | Afin d'induire une ISR, les cellules sont traitées avec une solution d'arsénite de sodium (AS, 10 ou 20 µM) pendant 6 h ou 24 h (**Tableau 1**).

Puromycylation | À l'issue du traitement à l'AS, les cellules sont rincées au PBS, puis incubées avec de la puromycine (50 µg/mL) seule ou en combinaison avec de la cycloheximide (100 µg/mL) pendant 20 minutes (**Tableau 1**). Les cellules sont ensuite rincées au PBS puis soit fixées au paraformaldéhyde pour des analyses en immunocytochimie, soit lysées dans du tampon RIPA 1X pour des analyses biochimiques.

Inhibition de l'ISR | Après 5 h de traitement à l'AS, l'ISRIB (1, 5 ou 10 μ M) est ajouté dans le milieu de culture pour une durée supplémentaire d'1 h (**Tableau 1**). Les cellules sont ensuite rincées au PBS avant d'être préparées pour les analyses.

Produit	Solvant	Concentration mère	Référence
Arsénite de Sodium	Eau	150 mM	Sigma, 107K07641
Puromycine	Eau	50 mg/mL	Sigma, P8833
Cycloheximide (CHX)	DMSO	20 mg/mL	Calbiochem, 5087739
ISRIB	Eau	2 mM	Sigma, SML0843

Tableau 1 | Tableau récapitulatif des traitements utilisés sur les lignées cellulaires.

2 Les lignées transgéniques de la pathologie Tau

L'ensemble des expériences *in vivo* effectuées a fait l'objet d'une autorisation du comité régional d'éthique (Avis n° 43474-2023050714441306). Les souris ont été élevées dans l'animalerie EOPS (*Exempt d'Organisme Pathogène Spécifique*) de l'Université de Lille et hébergées dans l'annexe de l'animalerie dans le bâtiment Biserte, toute la durée de l'expérience et jusqu'à la mise à mort. Les souris ont été logées dans des cages jetables (*Innovive*) dans des armoires ventilées à température contrôlée et maintenues selon un cycle jour/nuit de 12 h. La nourriture et l'eau ont été en libre accès tout au long de l'étude.

2.1 Description des lignées

2.1.1 La lignée murine Thy-Tau 22

La lignée transgénique Thy-Tau 22 exprime la protéine Tau humaine à partir de l'ADNc de l'isoforme 1N4R (412 acides aminés), portant deux mutations associées aux tauopathies, plus particulièrement à la dégénérescence lobaire fronto-temporale (FTLD) : G272V et P301S, favorisant l'agrégation de Tau. L'expression du transgène est régulée par le promoteur neuronal Thy1.2. Ce modèle, développé au sein du laboratoire et décrit pour la première fois par Schindowski et al. (Schindowski et al., 2006), développe une pathologie Tau hippocampique progressive marquée notamment par une accumulation de Tau hyperphosphorylée ainsi que des inclusions neurofibrillaires, détectée dès l'âge de 3 mois, dans la région CA1 (*Corne d'Ammon*), et accentuée avec l'âge. Sur le plan fonctionnel, les souris présentent également des troubles cognitifs évolutifs : la mémoire non spatiale est atteinte à partir de l'âge de 6 mois, tandis que la mémoire spatiale n'est affectée qu'à partir de l'âge de 9 mois, en l'absence de troubles moteurs (Van Der Jeugd et al., 2013). De plus, il a été montré

que l'AcMet11-tau est détectable dans l'hippocampe de ces souris dès l'âge de 2 mois (Guedj et al., 2025)

Les souris Thy-Tau 22 sont sous fond génétique C57BL/6J, maintenues et utilisées sous forme hétérozygote (Tg⁺). Les souris n'exprimant pas le transgène au sein des portées obtenues servent de contrôle (WT ou +/+). Dans le cadre de ce travail, afin d'évaluer si le stress cellulaire potentialise la production d'AcMet11-Tau et la pathologie Tau associée, les animaux ont été traités à l'Arsénite de sodium (Sigma) dans l'eau de boisson, à partir de l'âge de 2 mois.

2.1.2 La lignée murine Thy-Tau 30

La lignée transgénique Thy-Tau 30 exprime également, sous le contrôle du promoteur neuronal Thy1.2, la protéine Tau humaine 1N4R, portant deux mutations pathogènes (P301S et G712V) (Leroy, Bretteville, et al., 2007; Schindowski et al., 2006). Ce modèle, plus agressif que la lignée Thy-Tau 22, se caractérise par une accumulation rapide des enchevêtrements neurofibrillaires dans le cerveau antérieur et la moelle épinière. Cette pathologie s'accompagne d'une atrophie cérébrale et hippocampique, d'une axonopathie centrale et périphérique, ainsi que de déficits moteurs marqués (Leroy, Bretteville, et al., 2007). Des souris sauvages de fond génétique C57BL/6J, issues des mêmes portées, ont servi de contrôle (WT).

2.1.2.1 Injections stéréotaxiques d'extraits contrôles ou Alzheimer

Les procédures expérimentales comprenant les injections stéréotaxiques et la préparation des tissus ont été réalisées avant mon arrivée au laboratoire (Gary et al., 2019). Les coupes cérébrales des souris Tau 30 m'ont été fournies pour les analyses de l'ISR présentées dans ce travail.

Tissus humains cérébraux | Des échantillons congelés de tissu cérébral (cortex pariétal) provenant de deux patients atteints de la Maladie d'Alzheimer (AD, stade VI de Braak, stades 5 et 4 de Thal, respectivement) et d'un individu contrôle (CTRL, stade 0 Braak/Thal) ont été obtenus à partir de cerveaux collectés dans le cadre d'un programme de dons organisé par la banque de cerveaux NeuroCEB (GIE NeuroCEB), gérée par un consortium d'associations de patients.

Préparation des homogénats à injecter | Les échantillons CTRL ou AD ont été homogénéisés individuellement à 20 % poids/volume (p/v) dans une solution stérile de glucose à 5 % (Virbac, Boulogne, France), à l'aide d'un homogénéiseur de type Ribolyser (FastPrep FP120, Bio 101, Thermo Savant, Hybaid). Les homogénats cérébraux sont ensuite aliquotés dans des tubes stériles en polypropylène et conservés à -80 °C jusqu'à leur utilisation.

Injection stéréotaxique des extraits | Les animaux sont anesthésiés par injection intrapéritoneale (IP) d'un mélange de kétamine (100 mg/kg) et de xylazine (10 mg/kg) suivie d'une anesthésie locale du scalp par la lidocaïne. Les souris Tau 30 âgées d'un mois reçoivent une injection bilatérale dans l'hippocampe aux coordonnées depuis le bregma antéro-postérieur (AP) : -2,5 ; médio-latérale (ML) : +/- 1 ; dorso-ventrale (DV) : -1,8 de 2 µL d'homogénat de cerveau CTRL ou AD à un débit de 250 nL/minute dans une seringue en verre (Hamilton). Pour éviter toute douleur post-opératoire, une injection d'antalgique sous-cutanée est réalisée (Buprénorphine 0,1 mg/kg).

Mise à mort | Un mois après les injections stéréotaxiques, les souris sont euthanasiées par overdose de sodium pentobarbital (100 mg/kg en IP) suivie d'une injection intracardiaque de PAF 4%. Après 1 nuit de post-fixation au PAF 4%, les cerveaux sont cryoprotégés dans une solution de 15 % et 30 % de sucrose. Les coupes coronales (40 µm) sont coupées au microtome (SM2400, Leica Microsystems) et conservées dans une solution de stockage (30 % de glycérol, 30 % d'éthylène glycol, 30 % d'eau distillée et 10 % de PBS) à -20 °C jusqu'à leur utilisation.

2.2 Études comportementales chez les souris Thy-Tau 22

Une étude pour évaluer l'effet d'un traitement à l'AS dans l'eau de boisson des souris Thy-Tau 22 a été réalisée dès l'âge de 2 mois, et des évaluations comportementales à 4 et 5 mois ont été menées.

2.2.1 Open Field

L'anxiété et l'activité locomotrice des souris sont évaluées en utilisant le test de l'Open Field (OF), qui mesure leurs déplacements et comportements dans un environnement ouvert et inconnu. Ce dispositif comprend une arène, divisée en 3 zones : le centre, le mur et la zone intermédiaire (floor) (**Figure 22**). Une lumière de forte intensité (50-60 lux) est émise au centre de l'arène. Grâce au logiciel de suivi automatisé Ethovision XT (Noldus), l'activité des souris est enregistrée pendant 10 minutes.

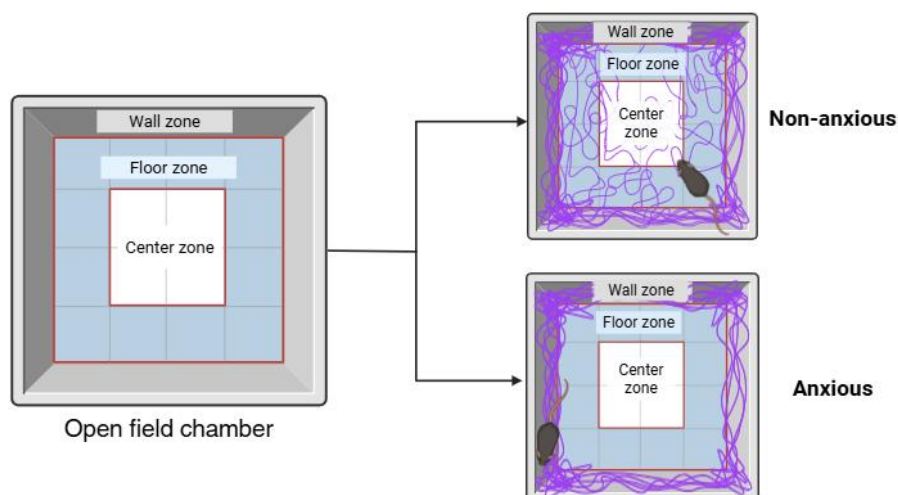


Figure 22 | Représentation schématique de l'Open Field.

L'open Field consiste en une arène subdivisée en 3 zones : la zone centrale (Center zone), la zone périphérique le long des parois (Wall zone) et la zone intermédiaire (Floor zone). La souris, espèce naturellement anxieuse, présente une préférence marquée pour les zones proches des parois (anxious). A l'inverse, une souris présentant un phénotype réduit d'anxiété, passe davantage de temps dans les zones centrales de l'arène (non anxious). Figure faite sur Biorender.

2.2.2 Le test de mémoire spatiale à court terme : le Y Maze

La mémoire spatiale à court terme a été évaluée à l'aide du test du labyrinthe en Y. Ce dispositif comprend 3 bras opaques mesurant 22 cm de long, 7 cm de large et 15 cm de haut. Le fond des bras est recouvert de litière, mélangée entre chaque départ, afin d'éviter toute trace olfactive. Des repères visuels fixes sont disposés sur les murs autour du labyrinthe, afin de fournir des indices spatiaux facilitant l'orientation des animaux. La position des bras (« bras de départ », « nouveau bras » et « autre bras ») a été aléatoirement assignée à chaque souris (**Figure 23**).

La procédure expérimentale se décompose en deux phases. Lors de la phase d'apprentissage (5 minutes), l'accès au futur « nouveau bras » est bloqué à l'aide d'une porte opaque, permettant à la souris d'explorer uniquement les deux bras disponibles (« bras de départ » et « autre bras »). À l'issue de cette phase, la souris est replacée dans sa cage avec ses congénères pour une période de rétention de 2 minutes. Ensuite, lors de la phase de test, la barrière bloquant le « nouveau bras » est retirée. La souris est replacée dans le même « bras de départ » et autorisée à explorer librement l'ensemble du labyrinthe (les 3 bras) pendant 5 minutes. Le temps passé dans chaque bras au cours des deux phases est enregistré avec le logiciel de suivi automatisé Ethovision XT (Noldus).

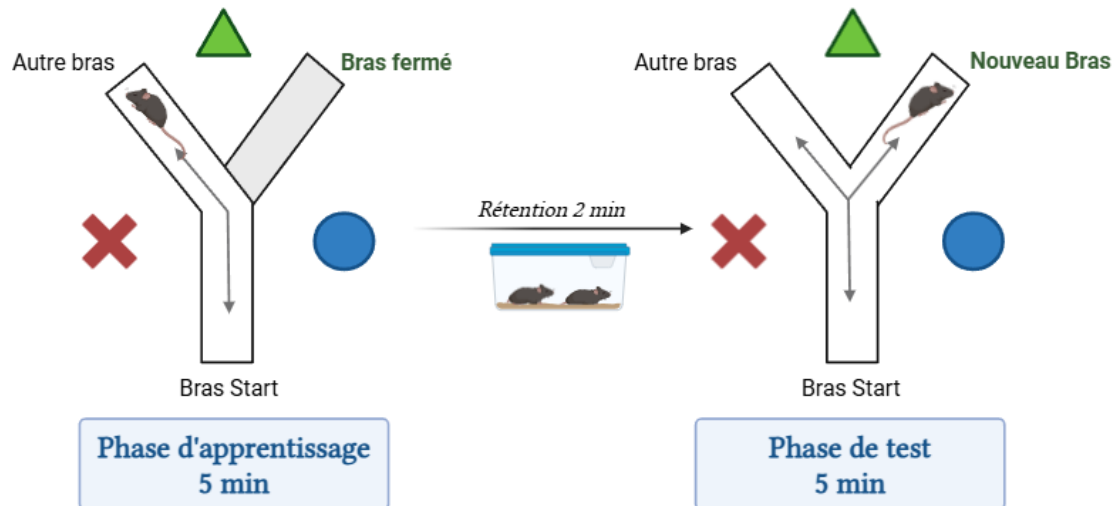


Figure 23 | Représentation schématique du labyrinthe en Y (Y Maze), utilisé pour évaluer la mémoire spatiale à court terme.

Figure faite sur Biorender.

2.3 Mise à mort des animaux et prélèvements des tissus chez les souris Thy-Tau 22

Les souris sont mises à mort par perfusion intracardiaque de sérum physiologique (NaCl 9 %), à la suite des derniers tests de comportement (Open Field et Y Maze).

Pour les analyses immunohistochimiques, les hémisphères gauches sont prélevés et incubés dans du paraformaldéhyde (PAF) à 4 % pendant 7 jours à 4 °C. Ils sont par la suite transférés dans une solution cryoprotectrice : PBS contenant 20 % de sucrose, pendant une journée. Ils sont ensuite plongés une minute dans une solution d'isopentane refroidie entre -30 °C et -40 °C dans de la carboglace. Ils sont immédiatement congelés à -80 °C. Les cerveaux peuvent ensuite être coupés au cryostat et les coupes sont conservées dans du tampon PBS-azide 0,2 % à 4 °C avant leur utilisation.

Pour les analyses biochimiques et transcriptomiques, l'hémisphère droit est disséqué afin d'isoler le cortex et l'hippocampe. Les différentes pièces anatomiques sont ensuite congelées dans l'azote liquide et conservées à -80 °C.

Pour le dosage de l'arsénite de sodium, le sang est prélevé au moment du sacrifice et centrifugé à 2 500 g pendant 15 min à 4 °C afin de récupérer le plasma.

2.4 Dosage de l'arsenic dans le plasma et le cortex des souris Thy-Tau 22

Le dosage a été réalisé par le Dr Nicolas Beauval sur la plateforme de toxicologie du Centre de Biologie et de Pathologie de Lille (CBP).

Plasma | Après homogénéisation, les échantillons de plasma ont été dilués 50 fois dans une solution d'acide nitrique 1,54 % (v/v) (RPE analytical grade 69,5 % ; Carlo Erba Reagents) préparée dans de l'eau ultrapure (Purelab Flex ; Veolia Water), contenant 0,1 % (v/v) de Triton™ X-100 (Sigma-Aldrich) et 0,2 % (v/v) de butan-1-ol (VWR Chemicals ; Radnor). L'arsenic a été quantifié par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS, Thermo iCAP™ Q ; Thermo Scientific), en utilisant l'isotope ⁷⁵As comme ion quantificateur et le gallium (⁷¹Ga) comme standard interne. La limite inférieure de quantification était de 0,2 µg/L de plasma. La méthode analytique a été validée par des contrôles qualité internes quotidiens (Clinchek ; Recipe Chemicals) et par une participation régulière au programme d'évaluation externe QMEQAS (Institut National de Santé Publique du Québec).

Cortex | Les échantillons de cortex ont été préalablement minéralisés dans un mélange d'acide nitrique et d'acide chlorhydrique de qualité pure, dilués dans de l'eau ultrapure, à l'aide d'un système de digestion micro-ondes Multiwave Go Plus (Anton Paar), avant d'appliquer le même protocole analytique.

2.5 Analyses immunologiques des cerveaux murins

2.5.1 Coupes des hémisphères au cryostat

Les hémisphères cérébraux sont coupés selon une coupe coronale à l'aide d'un cryostat Leica suivant ces réglages : Température de l'objet : -20 °C ; température de la chambre : -20 °C ; épaisseur des coupes : 30 µm. Les hémicerveaux sont enrobés dans une matrice Tissue-Tek OCT permettant de les protéger et de les fixer au support de coupe. Les coupes flottantes sont déposées successivement dans des puits, toutes les 10 sections consécutives, et sont stockées dans du tampon PBS + 0,2 % d'azide à 4 °C jusqu'à leur prochaine utilisation afin de les protéger de toute contamination microbienne. Pour une conservation à long terme, les coupes sont placées dans du glycérol, de l'éthylène et du PBS à -20 °C.

2.5.2 Immunohistochimie par immunoperoxydase sur coupes flottantes

Les coupes flottantes sont rincées 3 fois pendant 10 minutes dans le tampon de lavage PBS + 0,2 % de Triton. Étant donné que la détection de l'immunoréactivité repose sur l'activité enzymatique de la peroxydase couplée à l'anticorps secondaire, les coupes sont traitées avec de l'eau oxygénée

MATERIEL ET METHODES

(H₂O₂ 0,3 % dans du PBS) pendant 30 minutes afin de bloquer les peroxydases endogènes. En fonction de l'anticorps utilisé, les sites de fixation non spécifiques sont saturés soit dans du sérum de souris (MOM ; Vector) soit dans du sérum de chèvre (Normal Goat Serum ; Vector) dilué au 1/100 dans du PBS pendant 1 h à température ambiante (TA). Les coupes sont ensuite incubées avec l'anticorps primaire d'intérêt (**Tableau 2**) dans le tampon de lavage, sous agitation à 4 °C pendant une nuit.

Après 3 lavages, les coupes sont incubées avec l'anticorps secondaire anti-IgG de souris biotinylé (Vector) dilué au 1/400 dans le tampon de lavage pendant 1 h à TA. Les coupes sont ensuite incubées avec le kit ABC (Vector), un complexe d'amplification du signal avec une association avidine-biotine-peroxydase, pendant 2 h à TA. Pour la révélation, les coupes sont incubées dans une solution de 50 % de DAB (3,3'-diaminobenzidine ; Sigma), 50 % de Tris 0,2 M et 0,045 % d'H₂O₂ qui permet la réaction enzymatique au cours de laquelle la peroxydase va oxyder la DAB, en produisant un précipité marron dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéine d'intérêt. Cette réaction est stoppée par un rinçage à l'eau pendant 30 secondes. Les coupes sont ensuite transférées dans du sérum physiologique (NaCl 9 %) avant d'être montées sur des lames gélatinées.

Lorsque les lames sont sèches, celles-ci sont déshydratées par incubation de 5 minutes dans des bains d'alcool de concentration croissante (éthanol 70 %, 95 % et 100 %) puis 3 bains de toluène afin de pouvoir réaliser le montage des lamelles avec le liquide de montage Vectamount Permanent (Vector).

Anticorps	Réactivité	Espèce	Fournisseur	Dilution
Immunocytochimie				
2H2D11	AcMet11-Tau	Souris	Laboratoire	1/200
5D12	Tau totale (AA 162-175)	Souris	Laboratoire	1/200
M19G	Tau totale (AA 1-19)	Lapin	Laboratoire	1/200
Anti-puromycine	Puromycine	Souris	Millipore ZMS1016	1/10 000
ATF4	ATF4	Lapin	Cell Signaling #11815	1/200
Immunohistochimie / Immunofluorescence				
2H2D11	AcMet11-Tau	Souris	Laboratoire	1/200
AT100	PHF-Tau (pThr212/pSer214)	Souris	Invitrogen #MN1060	1/1000
AT8	Phospho-Tau (Ser202/Thr205)	Souris	ThermoFisher #MN1020	1/500
GFAP	GFAP (glial fibrillary acidic protein)	Lapin	Dako Z0334	1/1000
Western Blot / ELISA				
2H2D11	AcMet11-Tau	Souris	Laboratoire	1/200
ATF4	ATF4	Lapin	Cell Signaling #11815	1/1000
M19G	Tau totale (1-19)	Lapin	Laboratoire	1/10 000
5D12	Tau totale centrale (162-175)	Souris	Laboratoire	1/1000
Tau Cter 993S1	Partie Cter de Tau (426-441)	Lapin	Laboratoire	1/4000
Tau Cter 9F6	Partie Cter de Tau	Souris	Laboratoire	1/1000
HT7	Tau Totale Humaine	Souris	ThermoFisher #MN1000	1/2000
AT100	Tau humaine, pThr212/pThr214	Souris	Invitrogen #MN1060	1/1000
pSer 396	Phospho-Tau (Ser396)	Lapin	Invitrogen #44-752G	1/1000
p-eIF2α (Ser51)	eIF2α, Ser51	Lapin	Cell signaling #9721	1/1000
t-eIF2α	Sous unité α totale de eIF2	Lapin	Cell signaling #9722	1/1000
GAPDH	GAPDH	Lapin	Sigma-Aldrich #G9545	1/50 000

Anti-puromycine	Puromycine	Souris	Millipore ZMS1016	1/25 000
7C12	Tau totale (AA 11-20)	Souris	Laboratoire	1/1000
Exon1M2b	Anti-exon 1 (Tau), 23-44	Souris	Laboratoire	1/1250
7B1	Tau Totale (AA 162-175)	Souris	Laboratoire	1/1250

Tableau 2 | Tableau récapitulatif des principaux anticorps primaires utilisés dans ce projet : immunocytochimie, immunohistochimie, Western Blot et dosage ELISA.

2.5.3 Analyse des images : quantification des immunohistochimies

Les lames histologiques sont numérisées à l'aide d'un microscope à scanner de lames automatisé (Zeiss AXIOSCAN Z1 slide scanner, associé au microscope). Les images obtenues au format CZI dans le logiciel ZEN sont exportées en fichier TIFF. Ensuite, un protocole d'analyse est réalisé par la plateforme de microscopie PLBS, grâce au logiciel Fiji ou ImageJ permettant de quantifier soit le nombre de neurones, soit une densité de surface marquée. Pour chaque coupe, la surface de l'hippocampe total exprimée en mm² est également récupérée afin de faire les ratios :

- nbre neurones/mm² = $\frac{\text{nombre de neurones marqués}}{\text{surface totale}}$
- ratio de surface en % = $\frac{\text{surface marquée}}{\text{surface totale}} \times 100$

Pour résumer, les images sont converties en 8 bits puis un seuil de marquage a été appliqué pour chaque coupe et chaque anticorps (2H2D11, AT100 et AT8) afin de quantifier le nombre d'événements positifs marqués ou d'évaluer le pourcentage de surface marquée.

2.5.4 Immunofluorescence sur coupes flottantes

Les coupes flottantes sont rincées dans le tampon de lavage (PBS-Triton 0,2 %), 3 fois 10 minutes. Ensuite, les sites de fixation non spécifiques sont saturés, soit avec du sérum de souris (MOM ; Vector) lorsqu'un seul anticorps primaire est utilisé, soit avec du sérum de chèvre (Normal Goat Serum ; Vector) lors d'une double fluorescence, dilués au 1/100 dans le tampon de lavage, pendant 1 h à TA. Après 3 rinçages de 5 minutes dans le tampon de lavage, les anticorps primaires (**Tableau 2**), dilués dans le tampon de lavage, sont incubés 1 nuit à 4 °C sur roue tournante. Pour chaque anticorps secondaire, une coupe sans incubation avec l'anticorps primaire est utilisée comme contrôle négatif pour vérifier que les secondaires seuls n'émettent pas de fluorescence. Après 3 lavages de 10 minutes dans le tampon de lavage, les coupes sont incubées avec l'anticorps secondaire (AF488 mouse ou AF568 Rabbit ; Invitrogen), dilué au 1/1000 dans le tampon de lavage pendant 1 h à TA. Les coupes sont ensuite rincées 3 fois 10 minutes et incubées avec le DAPI dilué au 1/5 000 dans du PBS pendant 5 minutes. Après 3 lavages finaux, les coupes sont mises dans du sérum physiologique au moins 10

minutes avant de les monter sur des lames gélatinées. Une fois les coupes montées et sèches, elles sont incubées avec le Noir Soudan (autofluorescence reagent ; Millipore) afin d'éviter l'autofluorescence des coupes selon un protocole précis : PBS 5 minutes et 5 minutes dans l'éthanol 70 %. Ensuite, les coupes sont incubées avec le Noir Soudan filtré sur 0,2 µm pendant 5 minutes et rincées dans un bain d'éthanol 70 % pendant 1 minute et un bain de sérum physiologique pendant 5 minutes. Les lamelles peuvent ensuite être montées avec le milieu de montage Vectashield (Vector).

3 Analyses biochimiques

3.1 Extraction des protéines totales

3.1.1 A partir de cellules

Après un lavage au PBS, les cellules en culture sont lysées sur glace par ajout du tampon de lyse cellulaire RIPA 1X (Tris-HCl 50 mM pH 7,4 ; NaCl 150 mM ; EDTA 1 mM ; NP-40 1 % ; déoxycholate Na⁺ 0,5 %), contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Compleat mini EDTA-Free ; Roche). Les lysats sont ensuite soumis à une sonication au bain-marie (10 min, High), puis sont homogénéisés 1 h sur roue tournante à 4 °C afin de solubiliser les protéines. Enfin, les protéines sont dosées avec le kit BCA Protein Assay (Thermo Scientific) puis stockées à -20 °C jusqu'à leur utilisation.

3.1.2 A partir de tissus cérébraux de souris

Les tissus préalablement disséqués sont repris dans le tampon de conservation Tris-Sucrose (Tris-HCl 10 mM pH 7,4 ; Sucrose 10 % (0,32 M) ; inhibiteurs de protéases : 1 pastille de Complete mini EDTA-Free Roche dans un volume de 10 mL). Les hémis-hippocampes sont repris dans 200 µL de tampon. Les tissus sont homogénéisés à l'aide de l'Homogénéisateur Précellys 24 Touch (Bertin Technologies) et des tubes associés (5 800 RPM, cycle 2x15 s, 4 °C). Une partie des lysats tissulaires (100 µL) est ensuite reprise dans le tampon de lyse RIPA 2X (1V/1V), avant de procéder à l'extraction protéique selon la procédure décrite ci-dessus : sonication au bain-marie, homogénéisation sur roue tournante et dosage BCA. L'autre partie (100 µL) est utilisée pour l'extraction des ARN totaux (cf. partie analyse transcriptionnelle).

3.2 Western Blot

La technique du Western Blot permet de détecter et d'analyser des protéines spécifiques dans un échantillon à l'aide d'anticorps spécifiques, après une séparation en fonction de leur masse

moléculaire par électrophorèse en gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes, appelée SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis).

Préparation des échantillons | Les extraits protéiques à analyser sont dilués dans le tampon de dépôt LDS 4X (Lithium Dodecyl Sulfate ; Invitrogen) et dans l'agent réducteur DDT 10X (Dithiothreitol ; Invitrogen), afin d'avoir une concentration équivalente en protéines dans l'ensemble des échantillons de l'analyse. Le LDS neutralise la charge des protéines en les recouvrant de charges négatives permettant une migration uniquement en fonction de la masse moléculaire et le DTT permet de linéariser les protéines en rompant les ponts disulfures. Les échantillons sont ensuite dénaturés 10 min à 100 °C au bain-marie sec.

Électrophorèse | Un même volume d'échantillons est déposé dans chaque puit du gel polyacrylamide prêt à l'emploi (NuPage Bis Tris Gels 4-12 % ; Invitrogen). Un mélange de marqueurs de poids moléculaire est également déposé (Novex Sharp Prestained Protein Standard et MagicMark XP Western Protein Standard ; Invitrogen). La séparation des protéines s'effectue dans un tampon MOPS SDS Running buffer (Invitrogen) sous une tension constante de 200 V pendant 45 minutes.

Transfert | Les protéines sont transférées sur une membrane de nitrocellulose (0,45 µm ; Amersham Hybond ECL) par électrotransfert semi-liquide, 70 min à 30 V dans un tampon de transfert. Afin de s'assurer de la bonne efficacité du transfert, une coloration au rouge Ponceau (ATCA 3 %, rouge ponceau 0,2 % ; Sigma) est réalisée sur la membrane à la fin du transfert.

Immunodétection | Les sites de fixation non spécifiques sont saturés par incubation de la membrane 45 minutes à température ambiante dans une solution de TNT (Tris 15 mM pH 8, NaCl 140 mM, Tween 20 0,4 mM) contenant 5 % de lait ou 5 % de BSA (Bovine Serum Albumin ; Sigma). La membrane est ensuite incubée avec l'anticorps primaire (**Tableau 2**) dans la même solution pendant une nuit à 4 °C en agitation. La membrane est ensuite rincée au TNT puis incubée 45 minutes à TA avec l'anticorps secondaire couplé à la peroxydase (anti-rabbit IgG ou anti-mouse IgG ; Vector).

Révélation | Après 3 rinçages de 10 minutes au TNT, l'immunoréactivité est révélée à l'aide du kit de chimiluminescence ECL (Amersham) et captée par acquisition avec le système d'imagerie Amersham Image Quant 600. L'analyse densitométrique des signaux obtenus a été réalisée à l'aide du logiciel Image Quant.

3.3 Test ELISA Sandwich 2H2D11

Les tests ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) permettent un dosage et une quantification des protéines dans un échantillon, de manière sensible.

L'ELISA Sandwich 2H2D11 a été mis au point par le laboratoire. Il nécessite l'utilisation de 2 anticorps : un anticorps de capture (2H2D11) et un anticorps de détection, permettant un dosage du peptide AcMet11-Tau. Ces 2 anticorps reconnaissent deux épitopes distincts de la protéine antigène.

L'anticorps de capture (2H2D11) est dilué dans le tampon de coating (tampon carbonate) afin d'obtenir une concentration de 1 µg/mL. Ensuite, 100 µL (=100 ng) d'anticorps est déposé dans chaque puit d'une plaque NUNC durant 1 nuit à 4 °C. Après 5 lavages avec le tampon de lavage (PBS-Tween 20 0,05 %), les puits sont saturés avec la solution de caséine 2 % pendant 1 h à 37 °C. Les puits sont de nouveau rincés 5 fois avec le tampon de lavage et sont incubés 1 nuit à TA avec 50 µL d'échantillons dilués dans le tampon PBS-caséine-Tween (PCT) et 50 µL d'anticorps de détection d'isotype IgG2b dilué au 1/625 dans le PCT. Après lavage, l'anticorps de révélation anti-IgG2b dilué au 1/32 000 dans le PCT est ajouté dans chaque puit (100 µL) pendant 1 h à TA. Après 5 derniers lavages, la réaction est révélée par dépôt de 100 µL d'une solution contenant 10 mL de tampon citrate/phosphate, 1 pastille de TMB (Tétra Méthyl Benzidine ; Sigma Life Science) et 2 µL d'H₂O₂, pendant 30 minutes à TA et sous agitation dans l'obscurité. Après arrêt de la réaction par ajout de 50 µL de solution STOP (acide sulfurique H₂SO₄), la lecture de l'absorbance se fait à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

4 Analyses immunologiques sur les lignées cellulaires

4.1 Immunocytochimie

L'immunocytochimie a été réalisée afin de détecter et localiser spécifiquement certaines protéines d'intérêt au sein de cellules fixées, en utilisant des anticorps primaires et secondaires conjugués à des fluorophores.

Culture | Les coverslips sont placés dans les plaques 12 puits et recouverts d'éthanol 70 % pendant 1 h. Ils sont ensuite rincés à l'eau stérile afin d'enlever l'éthanol (2-3 rinçages). Les puits sont ensuite coatés par la solution de coating 5X : poly-D-lysine 0,5 mg/mL (Sigma-Aldrich) + laminine 10 µg/mL (Sigma-Aldrich). Après 2 h à TA, la solution est aspirée, les puits sont rincés 2 fois à l'eau stérile et la plaque est mise à sécher au minimum 2 h, ouverte sous le PSM. Les cellules sont ensuiteensemencées pour obtenir une confluence d'environ 70-80 % le lendemain. Après 24 h en étuve, le milieu est aspiré et les cellules sont traitées.

Immunomarquage | Après les différents traitements réalisés (**Tableau 1**), les puits sont rincés au PBS afin d'éliminer les traces de milieu et les cellules mortes. Les cellules sont ensuite fixées au paraformaldéhyde 4% (PAF 4%) pendant 20 minutes. Après 3 lavages au PBS, les cellules sont perméabilisées dans du PBS + 0,2 % Triton pendant 10 minutes. Les sites non spécifiques sont ensuite saturés avec une solution de PBS + 1 % BSA pendant 30 minutes et 3 lavages au PBS sont réalisés.

L'anticorps primaire (**Tableau 2**), dilué dans le tampon BSA 1% + Triton 0,25 %, est mis à incuber une nuit à 4 °C. Le lendemain, 3 lavages au PBS sont réalisés avant d'incuber avec l'anticorps secondaire fluorescent dilué au 1/1 000 dans le tampon BSA 1 % + Triton 0,25 % pendant ¾ d'heure à TA. Après 3 lavages au PBS, le DAPI dilué au 1/5 000 dans le PBS est mis à incuber pendant 5 minutes.

Montage sur lame | Après élimination du dernier rinçage, une goutte de Dako, autodurcissant, est déposée sur les lames avant de placer délicatement les coverslips sur celles-ci. Les lames sont laissées durcir à TA avant de les placer dans l'obscurité à 4 °C jusqu'à leur prochaine utilisation.

Microscopie | Les lames sont visualisées au microscope confocal Spinning Disk, à l'objectif x63 oil et les images sont analysées via le logiciel ZEN, Imaris ou ImageJ.

4.2 Proximity Ligation Assay (PLA)

Afin de démontrer que l'AcMet11-Tau est produit par traduction, nous avons combiné la ribopuromycylation (cf. puromycylation 1.3) à la technique de Proximity Ligation Assay (PLA).

La détection spécifique des protéines AcMet11-Tau en cours de traduction a été réalisée à l'aide du kit Duolink® In Situ Red (Sigma-Aldrich), selon un protocole adapté, en combinant un anticorps dirigé contre l'AcMet11-Tau et un anticorps anti-puromycine, chacun reconnu par des sondes secondaires complémentaires. Les signaux PLA amplifiés ont été visualisés sous forme de spots fluorescents, correspondant aux sites de traduction active de l'AcMet11-Tau.

Avant cette étape, comme les deux anticorps primaires utilisés sont issus de la même espèce (souris), nous utilisons le kit Duolink® Probemaker, permettant de conjuguer les anticorps séparément avec les oligonucléotides PLA PLUS ou PLA MINUS.

Protocole de conjugaison | Les anticorps à conjuguer doivent être à une concentration de 1 mg/mL dans du PBS. Ensuite, 2 µL de tampon de conjugaison sont ajoutés aux 20 µL d'anticorps à conjuguer. Après avoir mélangé en faisant des allers-retours à la pipette, la solution de chaque anticorps est transférée dans un vial d'oligonucléotides lyophilisés (MINUS = 2H2D11 ; PLUS = puromycine) et mise à incuber une nuit à TA. Le lendemain, 2 µL de solution STOP sont ajoutés dans chaque tube. Après 30 minutes d'incubation à TA, 24 µL de solution de stockage (Storage solution) sont ajoutés dans chaque tube et les anticorps conjugués sont stockés à 4 °C jusqu'à leur prochaine utilisation.

Protocole Duolink PLA | Après le traitement à l'AS et la puromycylation, les cellules sont rincées au PBS, puis fixées au PAF 4 % 20 minutes, et perméabilisées dans le PBS-Triton 0,2 % 10 minutes. Les sites de fixation non spécifiques sont ensuite bloqués pendant 1 h à 37 °C avec la solution de blocage (Duolink Blocking solution). Les coverslips sont ensuite incubées 1 nuit à 4 °C avec les deux anticorps

préalablement conjugués (anti-AcMet11-Tau MINUS et anti-puromycine PLUS) dilués dans le PLA Probe Diluent (**Tableau 2**). Après deux lavages de 5 minutes dans le tampon de lavage A 1X, la réaction de ligation a été réalisée pendant 30 minutes à 37 °C avec la ligase diluée au 1/40 dans le Ligation Buffer 1X. Les coverslips sont ensuite rincés 2 fois 5 minutes dans le tampon A 1X. L'étape d'amplification par polymérase est réalisée par incubation avec la polymérase diluée au 1/80 dans le tampon d'amplification 1X, pendant 100 min à 37 °C. Après les lavages finaux dans le tampon de lavage B 1X (2 x 10 minutes) et le tampon B 0,01X (1 minute), les coverslips sont montés sur lame avec le milieu de montage Duolink In Situ DAPI. Les signaux PLA ont été visualisés sous forme de spots fluorescents par microscopie à fluorescence (Spinning Disk) et comptés manuellement (**Tableau 3**).

Condition de traitement (exemple : - AS)			
Image	Nombre de cellules	Nombre de dots	Dots / cellules
1	X	Y	= Y / X
...	X	Y	= Y / X
30	X	Y	= Y / X
	= total de cellules	= total de dots	
Moyenne	Nombre de dots / cellules = totale cellules / total de dots		= moyenne des dots / cellules

Tableau 3 | Exemple de calcul pour le comptage des dots / cellules suite à la puro-PLA.

5 Analyses transcriptionnelles

Des analyses transcriptionnelles par PCR quantitative (qPCR) ont été réalisées à partir des ADNc issus de l'hippocampe des souris ou d'extraits cellulaires et conservés à -80 °C.

5.1 Extraction des ARN totaux : à partir de cellules ou d'hippocampes murins

L'extraction des ARN totaux a été réalisée à l'aide du kit NucleoSpin® RNA (Macherey-Nagel), selon le protocole du fabricant. Selon le type d'échantillon (cellules ou hippocampe), la 1^{ère} étape de l'extraction varie légèrement. Pour les cellules, après retrait du milieu de culture et rinçage au PBS, les cellules sont lysées directement dans les puits avec le tampon RA1, additionné de β-mercaptoéthanol (10 µL/mL), afin d'inactiver les RNases. Pour les hippocampes de souris, après l'extraction au Précellys (cf. partie extraction), 50 µL d'extrait tissulaire obtenu sont repris dans du tampon RA1, additionné de β-mercaptoéthanol (10 µL/mL). Les lysats (cellules ou hippocampes) sont ensuite homogénéisés par des allers-retours avec la pipette et chargés sur une colonne NucleoSpin® RNA équipée d'un filtre de

clarification (filtre orange). Les prochaines étapes sont identiques pour les 2 types d'échantillons. Après centrifugation, les ARN sont fixés sur la membrane de silice en présence du tampon d'ajustement RA2. Les impuretés (protéines, ADN génomique, sels) sont éliminées par des lavages successifs avec les tampons RAW2 et RA3. L'ADN génomique (ADNg) résiduel est digéré sur colonne par une DNase fournie dans le kit (digestion 15 minutes à TA). Enfin, les ARN sont élués dans 40 ou 60 µL d'eau sans nucléase (RNase-free water). La qualité et la quantité des ARN totaux sont évaluées par dosage au NanoDrop ND1000 à une longueur d'onde de 260 nm. La pureté de ces ARN est évaluée par les rapports A260/A280 (contamination par des protéines) et A260/A230 (contamination par des composés organiques), tous deux situés normalement à des valeurs de 1,8 – 2. Les échantillons sont stockés à -80 °C jusqu'à leur prochaine utilisation.

5.2 Rétrotranscription (RT)

La synthèse d'ADN complémentaire (ADNc) est réalisée à partir de 200 ou 500 ng d'ARN total, en utilisant le kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems ; Thermo Fisher Scientific), conformément aux instructions du fabricant. Le mélange réactionnel (20 µL au total) comprenait l'ARN, le tampon 10X RT, les dNTP (25X), les amorces random (10X), l'enzyme reverse transcriptase MultiScribe™ et l'inhibiteur de RNase. La rétrotranscription est effectuée dans un thermocycleur Veriti 2 (Applied Biosystems ; Thermo Fisher Scientific) selon le programme suivant : 10 min à 25 °C (amorçage), 120 min à 37 °C (transcription), puis 5 min à 85 °C (inactivation de l'enzyme). Les ADNc obtenus sont conservés à -20 °C jusqu'à utilisation pour des expériences de Qpcr.

Afin de contrôler l'absence de contamination ou d'amplification non spécifique, deux contrôles négatifs sont systématiquement réalisés en parallèle : (1) un contrôle sans ARN, où l'eau RNase-Free remplace l'ARN dans le mélange réactionnel, (2) un contrôle sans la reverse transcriptase, contenant l'ARN le plus concentré et le mix, mais sans l'enzyme. Ces contrôles permettent de valider la spécificité de la RT et d'exclure toute contamination par de l'ADNg ou de l'ADNc préexistant. Ils ont également été analysés en qPCR par la suite.

5.3 PCR quantitative (qPCR)

L'analyse quantitative de l'expression génique a été réalisée par qPCR en temps réel à l'aide du réactif PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Applied Biosystems ; Thermo Fisher Scientific) sur un thermocycleur QuantStudio™ 3.

Le SYBR Green est un colorant fluorescent qui se lie de manière non spécifique aux brins d'ADN à double brin ; sa fluorescence augmente proportionnellement à la quantité d'ADN amplifié à chaque cycle, permettant ainsi le suivi en temps réel de la réaction PCR.

Les échantillons (ADNc issus de la RT) sont dilués au 1/4 (pour une RT à 200 ng) ou au 1/10 (pour une RT à 500 ng). Dans chaque puit sont placés 2 µL d'ADNc dilué avec 8 µL de Mix (contenant 5 µL de SYBR Green, 2,8 µL d'eau RNase-Free, 0,1 µL d'amorce sens et 0,1 µL d'amorce antisens). Le programme de qPCR comprenait une activation initiale de l'ADN polymérase à 50 °C pendant 2 min et à 95 °C pendant 10 min, suivie de 40 cycles de dénaturation à 95 °C pendant 15 s et d'hybridation/élongation à 60 °C pendant 1 min. Une analyse de courbe de fusion a été effectuée à la fin de chaque réaction pour vérifier l'unicité du produit amplifié. L'expression relative des gènes a été calculée selon la méthode $\Delta\Delta C_t$, en utilisant PPIA comme contrôle endogène. Chaque condition a été analysée en triplicat technique.

	N° d'accès	Amorces sens	Amorces antisens	Amplicon (pb)
hTau	NM_016835.4	GTACGGGTTGGGGGACAGGA	CCCGGTTCTCAGATCCGTC	129
PPIA	NM_021130.5	AGCATACAGGTCCTGGCATC	TTCACCTCCCAAAGACCAC	127

Tableau 4 | Liste des amorces utilisées en qPCR avec la technologie SYBR Green.

Les amorces ont été utilisées à une concentration de 0,1 nM et leur température de fusion est d'environ 60 °C.

6 Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel GraphPad Prism 10.2.0. Dans l'ensemble des graphiques, les données sont exprimées en moyenne $\pm$ erreur-type standard à la moyenne (SEM). La normalité au sein des groupes est évaluée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. En fonction du nombre de groupes de l'expérience considérée et du nombre de variables, les résultats sont analysés soit par un test de Student, un Mann-Whitney, une One-Way ANOVA ou une Two-Way ANOVA suivie d'une analyse de comparaison multiple (post-hoc) de Tukey ou de Dunn. Les analyses de corrélation entre deux variables continues sont réalisées par un test de corrélation de Spearman suivi d'une régression linéaire. Pour tous les tests réalisés, une valeur $p < 0,05$ est considérée comme significative.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Chapitre 1 : Étude du mécanisme de génération du variant AcMet11-Tau dans des modèles cellulaires de réponse intégrée au stress.

La première partie de ce travail s'inscrit dans l'objectif principal de cette thèse : décrypter les mécanismes conduisant à la génération du variant AcMet11-Tau, en évaluant l'effet d'une induction de la réponse intégrée au stress. Comprendre comment ce variant est produit représente une étape essentielle pour relier les dérégulations de la traduction observées dans les maladies neurodégénératives à l'émergence de formes tronquées pathogènes de Tau.

L'approche adoptée a consisté à développer un modèle cellulaire de stress pertinent, permettant de démontrer que ce variant résulte d'un mécanisme de traduction. Pour cela, deux modèles cellulaires complémentaires ont été utilisés : la lignée stable SH-SY5Y/TR Tau et les cellules neuronales différenciées LUHMES. Ces deux modèles offrent un cadre expérimental permettant d'examiner la relation entre l'activation de l'ISR et la génération d'AcMet11-Tau, dans des contextes cellulaires distincts.

1 Étude de la génération du variant AcMet11-Tau dans la lignée stable SH-SY5Y/TR Tau

Afin d'étudier les mécanismes impliqués dans la génération du variant AcMet11-Tau, il était nécessaire de mettre au point un modèle cellulaire de stress pertinent. Nous avons utilisé une lignée stable de neuroblastome humain, les cellules SH-SY5Y/TR Tau. Ces cellules expriment de manière inductible l'isoforme 1N4R de la protéine Tau humaine, à partir de son ADNc et sous le contrôle d'un promoteur CMV. De plus, une étude antérieure a montré par une approche protéomique (LC-MS/MS) que le variant AcMet11-Tau, quoique à l'état de trace, peut être généré dans ces cellules (M. Derisbourg et al., 2015). Pour induire l'ISR, nous avons opté pour un traitement à l'Arsénite de sodium (AS).

Dans ce chapitre, seront présentés brièvement l'optimisation du traitement à l'Arsénite de sodium, puis plus en détails les résultats concernant : l'induction de l'ISR, la génération d'AcMet11-Tau (par Western Blot et microscopie), et enfin, l'utilisation de la méthode de Ribopuromycylation

combinée à la Proximity Ligation Assay (PLA), permettant de démontrer que l'AcMet11-Tau est produit par un mécanisme de traduction alternative en conditions d'activation de l'ISR.

1.1 Validation du modèle d'induction de la réponse intégrée au stress ?

L'Arsénite de sodium (AS) a été choisi comme inducteur de stress en raison de sa forte pertinence environnementale, biologique et pathologique. L'arsenic est l'un des contaminants les plus préoccupants pour la santé publique mondiale, avec près de 200 millions de personnes exposées par l'eau potable. Classée parmi les substances toxiques les plus préoccupantes par l'ATSDR en 2024 (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), une exposition chronique à l'arsenic est associée à de nombreux effets délétères, allant des cancers aux pathologies non cancéreuses, touchant divers systèmes physiologiques chez l'Homme et l'animal. Plus spécifiquement, un nombre croissant d'études souligne son rôle dans les atteintes neurologiques, tant périphériques que centrales, se traduisant par des déficits neurocognitifs et intellectuels (Garza-Lombó et al., 2019; Tolins et al., 2014; Tsuji et al., 2015), des troubles du comportement (Adedara et al., 2020; Rodríguez-Barranco et al., 2013), ainsi que des altérations des systèmes de neurotransmission (Medda et al., 2020).

Au niveau cellulaire et moléculaire, l'AS est un inducteur bien établi de la réponse intégrée au stress (ISR). En effet, il induit une phosphorylation de eIF2 α par les kinases de stress et entraîne une inhibition globale de la traduction, tout en permettant la traduction sélective de gènes adaptatifs tels qu'ATF4. (McEwen et al., 2005; Sun et al., 2017). Ce mécanisme a été décrit aussi bien *in vitro* que *in vivo*, ce qui en fait un outil expérimental robuste et pertinent pour modéliser l'activation de l'ISR dans des cellules neuronales.

Avant mon arrivée en master 2, les conditions optimales de traitement à l'AS avaient été établies par Thaddé Delattre (étudiant en master), permettant une activation de l'ISR sans toxicité cellulaire. Cela a été vérifié par dosage de la LDH dans les surnageants de culture à la suite d'un traitement à l'AS (10 et 20 μ M, à 6 h et 24 h), ainsi que par l'analyse en Western Blot du clivage de la caspase 3, ne montrant pas de différence entre les cellules traitées et les contrôles (résultats non présentés). J'ai ensuite validé ces conditions en analysant deux marqueurs de l'ISR : la phosphorylation de eIF2 α (p-eIF2 α) et l'expression d'ATF4 par Western Blot suite à un traitement à l'AS (20 μ M), pendant 6 h ou 24 h. Comme attendu, une augmentation du signal de p-eIF2 α sans variation du niveau total d'eIF2 a été observée dès 6 h de traitement, ainsi que d'ATF4, détecté uniquement en présence d'AS (**Figure 24**).

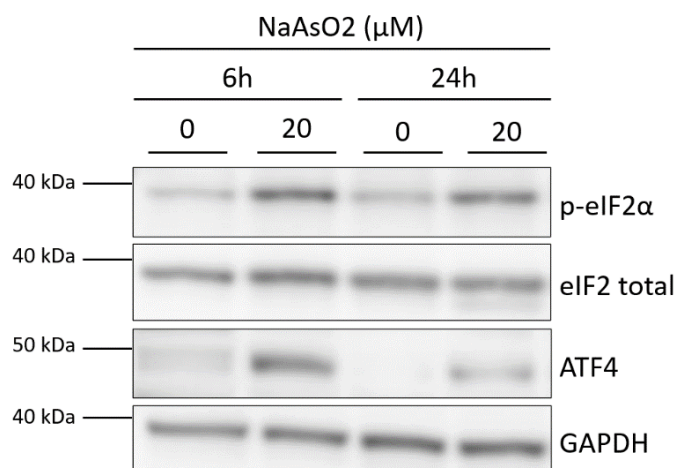


Figure 24 | La réponse intégrée au stress (ISR) est activée lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules SH-SY5Y/TR Tau.

Western Blot représentant l'activation de l'ISR suite à un stress induit par l'Arsénite de sodium (NaAsO₂), à 10 μM ou 20 μM pendant 6 h ou 24 h. p-eIF2α et ATF4 sont des marqueurs de l'ISR ; eIF2 total : expression d'eIF2 total ; GAPDH : contrôle de charge protéique. Dans un même encadrement, les images ont été rognées et contrastées uniformément à partir de la même image. Échelle moléculaire en kilodaltons (kDa).

Ces résultats confirment que le **traitement à l'AS (20 μM) active efficacement l'ISR** dans les cellules SH-SY5Y/TR Tau.

1.2 Le variant AcMet11-Tau est-il généré lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium ?

Après avoir validé les conditions d'induction de l'ISR, nous avons étudié la production du variant AcMet11-Tau. Deux approches ont été utilisées : le Western Blot et l'immunocytochimie à fluorescence (ICC). Dans un premier temps, nous avons testé deux doses d'AS (10 μM et 20 μM), afin d'évaluer un éventuel effet dose.

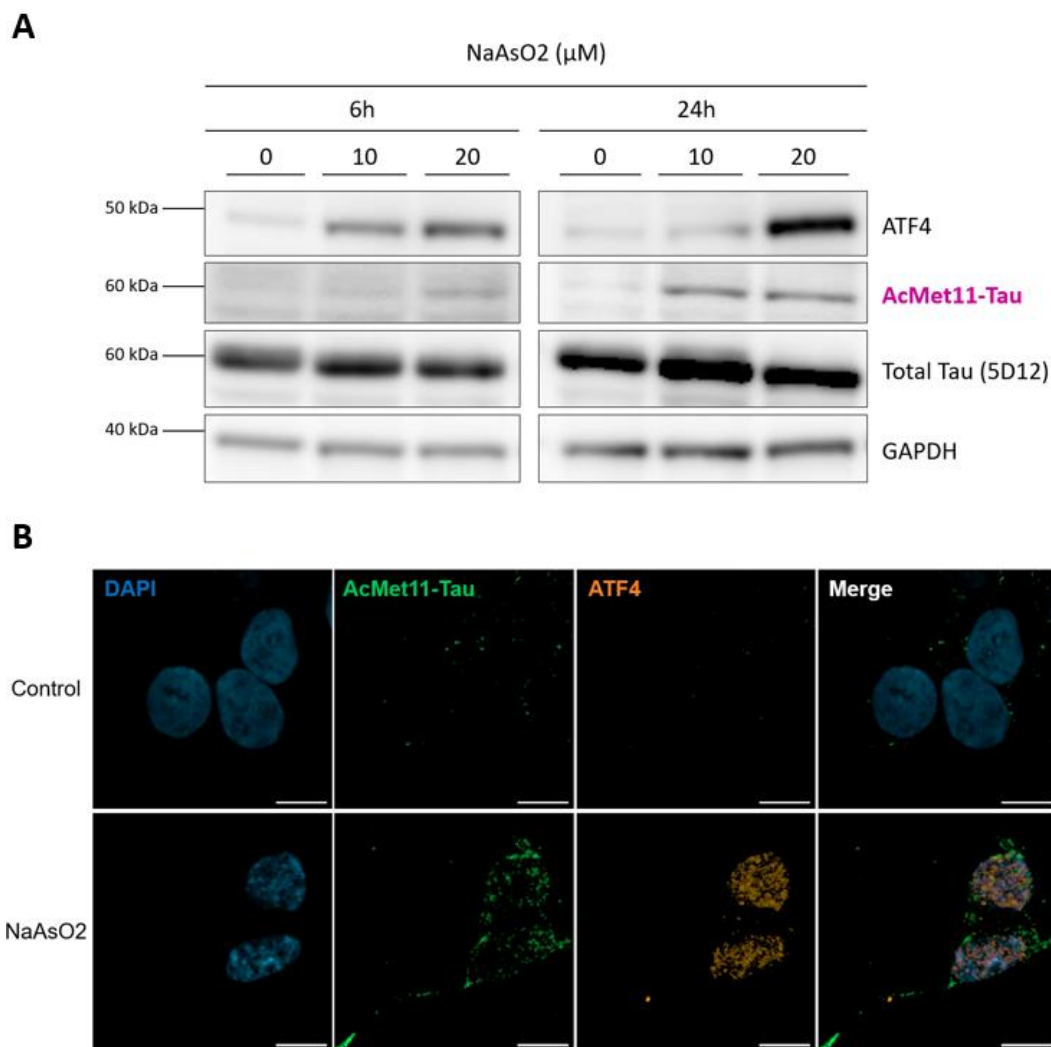


Figure 25 | Le variant AcMet11-Tau est généré lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules SH-SY5Y TR/Tau.

(A) Western Blot illustrant l'expression d'AcMet11-Tau lors de l'activation de la Réponse intégrée au Stress (ISR), détectée par l'anticorps 2H2D11 (AcMet11-Tau) et par l'anticorps anti-ATF4, après traitement par l'Arsénite de sodium (NaAsO₂, 10 ou 20 μM) pendant 6 h ou 24 h. L'anticorps 5D12 détecte la protéine Tau totale et GAPDH est utilisé comme contrôle de charge protéique. (B) Immunocytochimie à fluorescence illustrant l'expression d'AcMet11-Tau (signal vert), dans les mêmes cellules présentant une activation de l'ISR (ATF4, signal orange). DAPI : marqueur du noyau cellulaire (signal bleu). Le Merge correspond à la superposition des images obtenues avec le DAPI, le 2H2D11 et ATF4. Les images présentées sont des Maximum Intensity Projection (MIP), générées à partir de z-stacks, à l'aide du logiciel IMARIS. L'acquisition a été réalisée avec un microscope Zeiss Spinning Disk, équipé d'un objectif x63 oil. Le temps d'acquisition, l'exposition et les contrastes sont identiques pour chaque image et rapportés au contrôle négatif (sans anticorps primaire). Barre d'échelle : 10 μm.

En Western Blot, nous avons analysé ATF4 (activation de l'ISR), l'AcMet11-Tau et l'expression de la protéine Tau totale lors d'un traitement à l'AS. Tout d'abord, concernant ATF4, nous observons son expression après 6 h et 24 h de traitement à l'AS, avec une immunoréactivité plus forte pour la dose de 20 μ M par rapport à 10 μ M (**Figure 25, A**). Pour l'expression du variant AcMet11-Tau, il est détecté à partir de 20 μ M d'AS pour 6 h de traitement et dès 10 μ M pour 24 h de traitement. Aucune différence d'immunoréactivité n'est observée pour la protéine Tau totale suite au traitement à l'AS. En ICC, nous avons également analysé l'expression de l'AcMet11-Tau, en co-marquage avec ATF4 afin d'analyser si l'AcMet11-Tau est bien détectée dans les cellules exprimant ATF4 (**Figure 25, B**). Les résultats montrent que le variant AcMet11-Tau est généré uniquement à la suite d'un traitement à l'AS, dans les mêmes cellules positives pour ATF4. Le marquage AcMet11-Tau (signal vert) apparaît ponctiforme et périnucléaire, tandis qu'ATF4 montre comme attendu une localisation plus diffuse, principalement nucléaire.

En conclusion, ces résultats montrent que **l'AcMet11-Tau est produite dans les cellules SH-SY5Y/TR Tau suite à l'induction de l'ISR par l'Arsénite de sodium.**

1.3 Validation du rôle de la réponse intégrée au stress dans la production d'AcMet11-Tau : utilisation de l'ISRIB

Afin de confirmer que la génération d'AcMet11-Tau résulte spécifiquement de l'activation de l'ISR, nous avons utilisé l'ISRIB (Integrated Stress Response Inhibitor), un inhibiteur pharmacologique sélectif de cette voie. Comme abordé dans l'introduction (Chapitre 3, partie 2.2.3), l'ISRIB agit en contournant l'inhibition de la traduction induite par la phosphorylation d'eIF2 α . Pour rappel, lors de l'ISR, eIF2 α phosphorylé empêche la formation de nouveaux complexes d'initiation de la traduction en bloquant eIF2B dans un complexe inactif, ce qui réduit la synthèse protéique globale. L'ISRIB agit en rétablissant l'activité d'eIF2B, permettant ainsi de restaurer la traduction générale, malgré la phosphorylation d'eIF2 α induite par le stress cellulaire (Sidrauski et al., 2013, 2015; Zyryanova et al., 2021) (**Figure 26**). Ce traitement constitue donc un outil particulièrement adapté pour déterminer si l'AcMet11-Tau est produit uniquement dans un contexte d'activation de l'ISR. Ainsi, nous avons comparé la production d'AcMet11-Tau dans des cellules exposées à l'AS seul, ou en présence conjointe d'ISRIB.

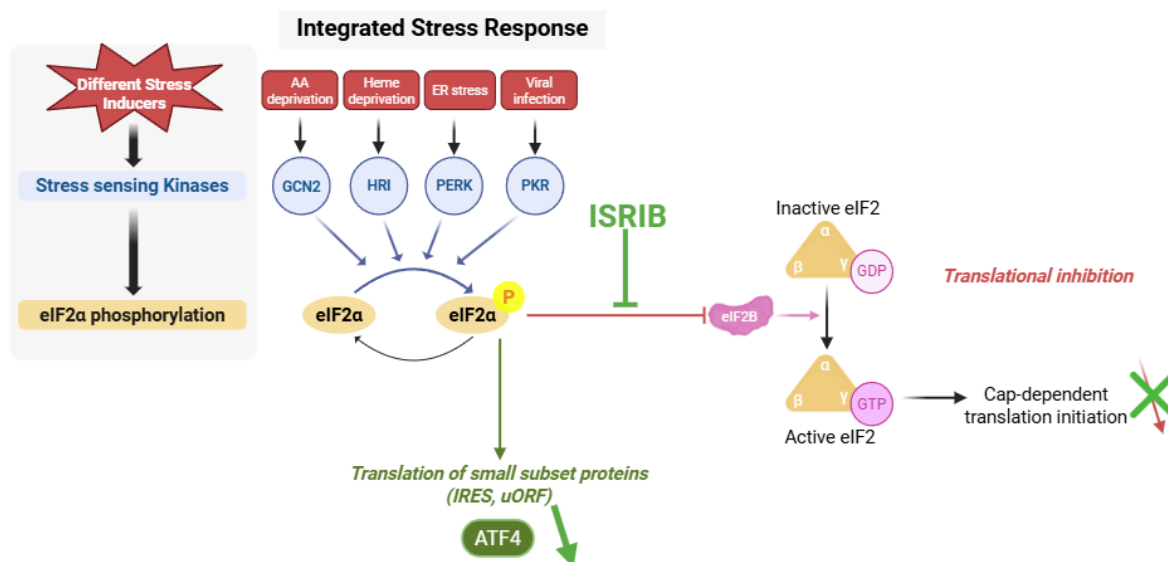


Figure 26 | Schéma explicatif du fonctionnement de l'ISRIB, inhibiteur de la réponse intégrée au stress.

La phosphorylation d'eIF2-α par différentes kinases de stress (GCN2, HRI, PERK, PKR) inhibe le recyclage d'eIF2-GDP en eIF2-GTP par eIF2B, entraînant un blocage de l'initiation de la traduction dépendante de la coiffe. Cette inhibition globale permet néanmoins la traduction sélective d'ARNm spécifiques tels qu'ATF4. L'ISRIB agit en stabilisant eIF2B, restaurant son activité malgré la présence d'eIF2α phosphorylé, et permet ainsi de lever partiellement l'inhibition de la traduction générale induite par l'ISR. Figure faite sur Biorender.

Nous avons d'abord analysé l'efficacité d'action de l'ISRIB dans nos conditions expérimentales. Pour cela, nous avons évalué la traduction globale suite au stress induit par l'AS, en présence ou non d'ISRIB, en utilisant la méthode de puromycylation qui permet de visualiser les protéines nouvellement synthétisées. La puromycine est un antibiotique qui mime l'extrémité 3' d'un ARNt chargé, en particulier celui porteur d'une tyrosine (ARNt^{Tyr}). Grâce à cette analogie, elle peut s'insérer dans le site A du ribosome. Une fois intégrée, elle est transférée à la chaîne polypeptidique naissante, mais contrairement à un véritable ARNt, la puromycine ne permet pas la suite de l'élongation. Son incorporation entraîne donc un arrêt prématuré de la traduction, la dissociation des sous-unités ribosomiques et la libération des polypeptides marqués en C-terminal par la puromycine, appelés protéines puromycinyllées (**Figure 27 A**), qui peuvent être visualisées par un anticorps spécifique (Aviner, 2020).

Dans nos conditions expérimentales, nous avons déterminé la dose efficace de l'ISRIB. Trois concentrations ont été testées : 1, 5 et 10 μM ainsi que deux cinétiques : (1) co-traitement AS + ISRIB pendant 6 h, ou (2) traitement à l'AS pendant 6 h, avec ajout de l'ISRIB 1 h avant la fin (5 h AS seul puis 1 h AS + ISRIB). Ici sont présentés uniquement les résultats pour la cinétique de 1 h d'ISRIB.

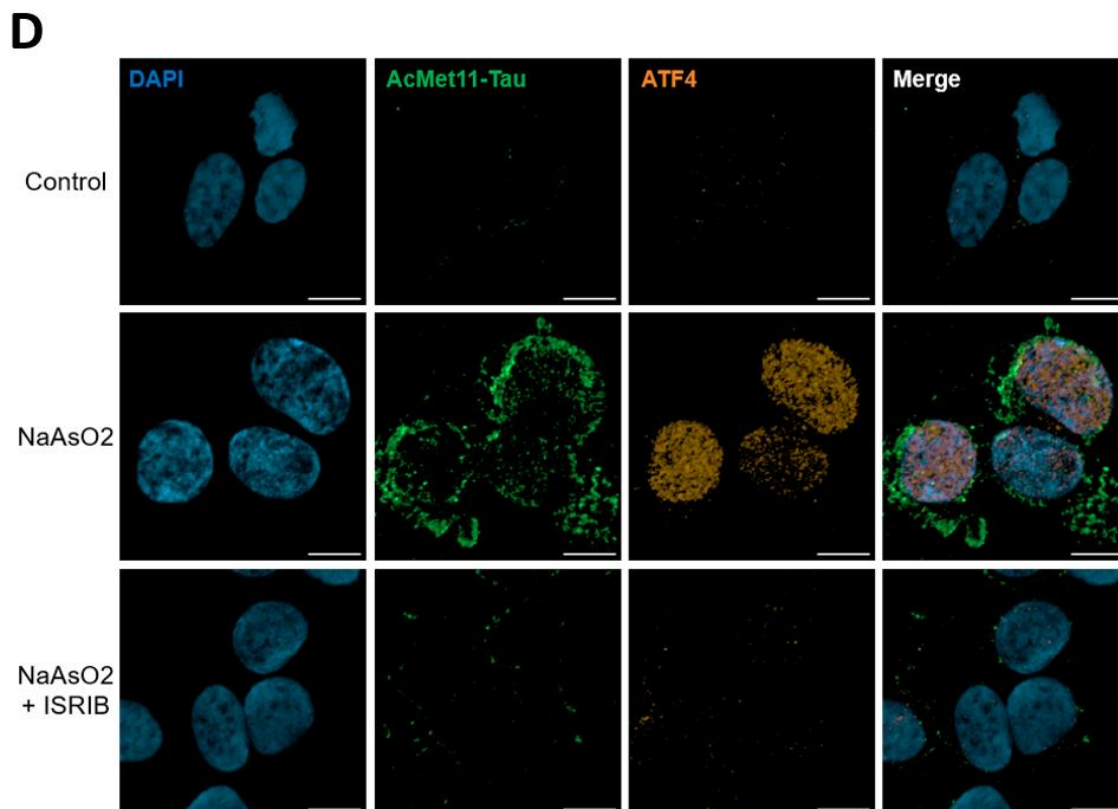
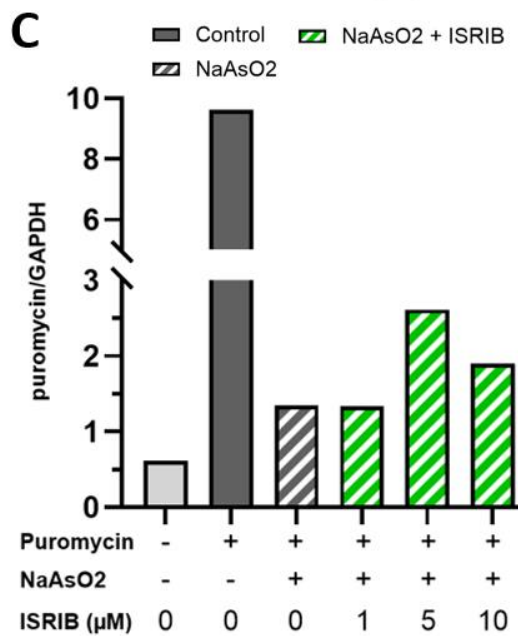
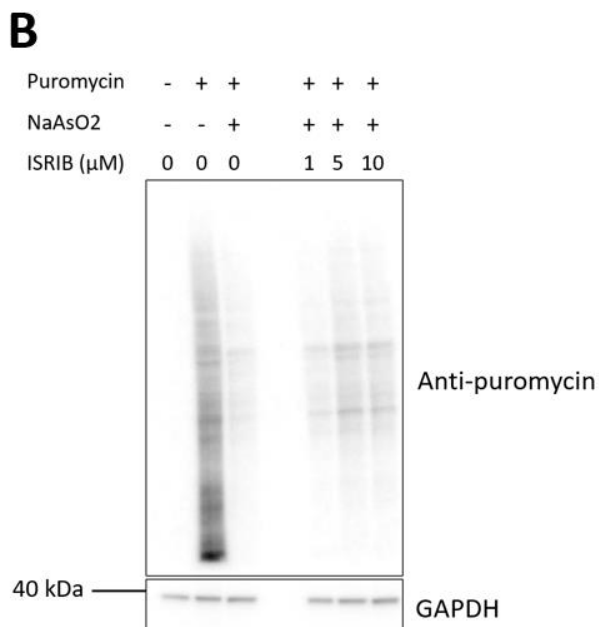
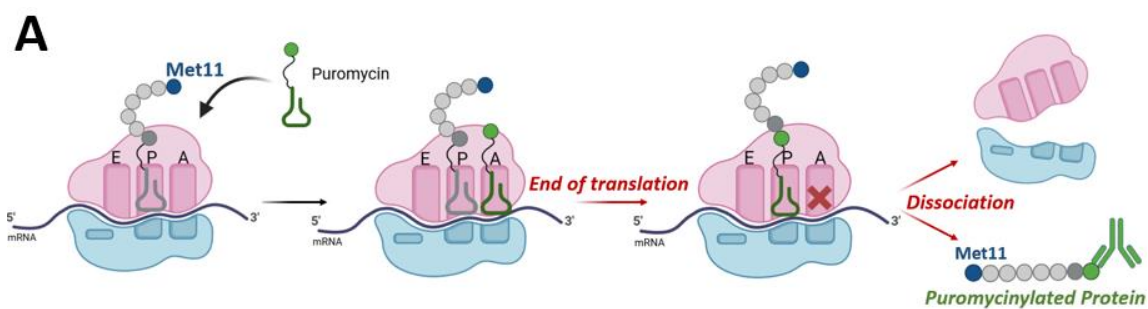


Figure 27 | Inhibition de l'expression d'AcMet11-Tau par l'ISRIB.

(A) Schéma du principe de la puromycylation. La puromycine s'incorpore dans les chaînes polypeptidiques en cours de synthèse, provoquant l'arrêt de la traduction, la dissociation des deux sous-unités ribosomales et la libération de protéines puromycinyllées. (B) Western blot représentatif de la traduction générale des protéines, évaluée par un anticorps anti-puromycine. Le traitement à l'arsénite de sodium (NaAsO_2 , 20 μM , 6 h) réduit fortement la traduction, tandis que l'ajout d'ISRIB (inhibiteur de la réponse intégrée au stress) restaure partiellement la synthèse protéique. (C) Quantification du signal de la puromycine, normalisée à la GAPDH ($n = 1$). (D) Immunocytochimie à fluorescence illustrant l'expression d'AcMet11-Tau. Ce variant est détecté uniquement après un traitement à l'AS (NaAsO_2 , 20 μM , 6 h). L'ajout d'ISRIB empêche l'expression d'AcMet11-Tau (anticorps 2H2D11, signal vert) et réduit l'activation de l'ISR, détectée par ATF4 (signal orange). Les noyaux cellulaires sont marqués au DAPI (signal bleu). Le Merge correspond à la superposition des trois signaux. Les images présentées sont des Maximum Intensity Projection (MIP), générées à partir de z-stacks, à l'aide du logiciel IMARIS. L'acquisition a été réalisée avec un microscope Zeiss Spinning Disk, objectif $\times 63$ oil. Le temps d'acquisition, l'exposition et les contrastes sont identiques pour chaque image et rapportés au contrôle négatif (sans anticorps primaire). Barre d'échelle = 10 μm .

Les résultats montrent qu'un traitement à l'AS entraîne une diminution de la traduction, mise en évidence par la baisse des protéines puromycinyllées comparée à la condition contrôle, sans AS (**Figure 27, B et C**). Lors de l'ajout d'ISRIB à 5 ou 10 μM , nous observons une augmentation des protéines puromycinyllées, comparée à la condition avec AS et sans ISRIB. L'ajout d'ISRIB restaure alors partiellement la traduction, qui était inhibée par le traitement à l'AS. Une fois ces conditions validées, nous avons étudié l'effet de l'ISRIB sur la génération d'AcMet11-Tau en ICC, en co-marquage avec ATF4, en utilisant la dose de 5 μM d'ISRIB pendant 1 h. Comme observé précédemment, les résultats montrent que l'AS induit une expression d'AcMet11-Tau dans les cellules qui expriment ATF4. En revanche, l'ajout d'ISRIB abolit l'expression à la fois d'AcMet11-Tau et d'ATF4.

Ces résultats démontrent clairement que **la production d'AcMet11-Tau est dépendante de l'activation de l'ISR** et qu'elle peut être inhibée par le blocage pharmacologique de cette voie par l'ISRIB.

1.4 Mise en évidence de la génération d'AcMet11-Tau par traduction alternative : utilisation de la puro-PLA

Afin de démontrer que l'AcMet11-Tau est le résultat d'une traduction alternative dans des conditions d'activation de l'ISR, nous avons utilisé la méthode de la puromycylation combinée à la

Proximity Ligation Assay (puro-PLA). Pour éviter que les protéines puromycinyllées ne soient dissociées des ribosomes, la puromycine a été appliquée en présence de cycloheximide (CHX), un inhibiteur de l'élongation (**Figure 28 A**). La CHX se fixe sur le site E de la sous-unité 60S, bloquant ainsi la translocation du ribosome et stabilisant le complexe 80S sur l'ARNm (David et al., 2012). Cette combinaison, connue sous le nom de Ribopuromycylation (RPM), permet de figer les protéines nouvellement synthétisées au niveau des ribosomes et d'analyser la localisation subcellulaire de la traduction. La PLA a ensuite été réalisée avec deux anticorps : l'un dirigé contre la puromycine et l'autre contre l'AcMet11-Tau. Cette approche permet de détecter spécifiquement les peptides AcMet11-Tau en cours de traduction.

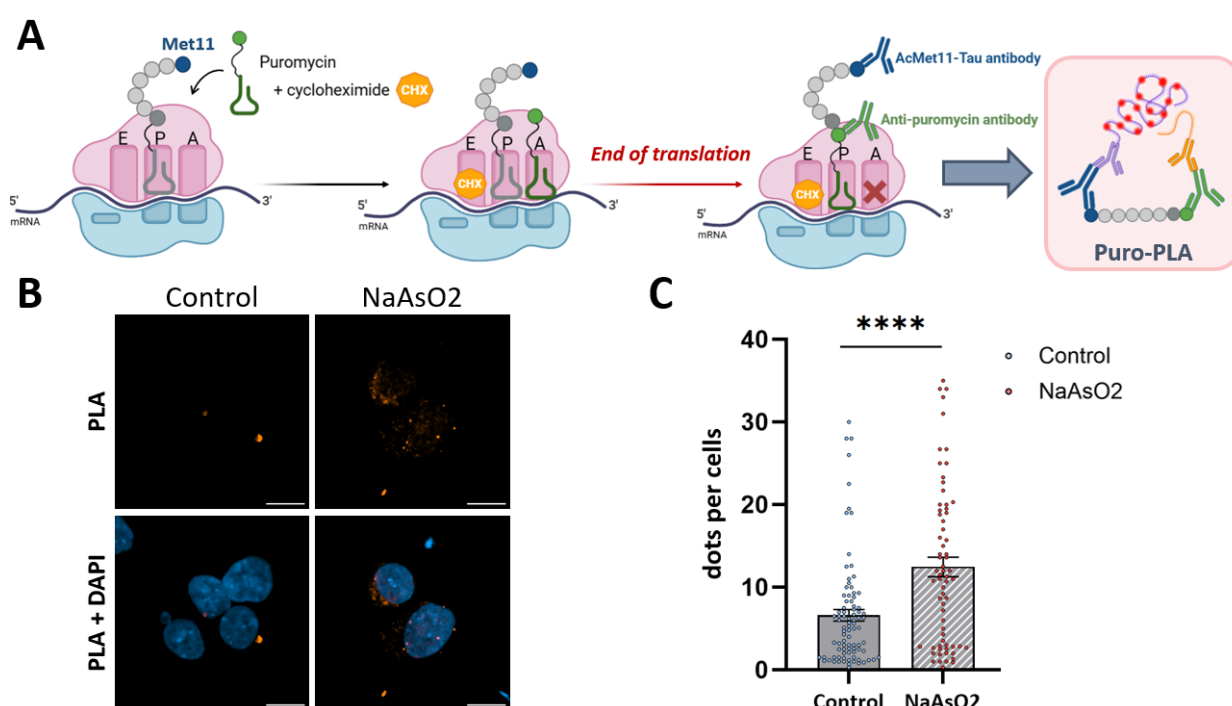


Figure 28 | Mise en évidence de la traduction d'AcMet11-Tau par puromycylation couplée à la PLA (puro-PLA).

(A) Schéma de la méthode de puromycylation couplée à la PLA. La cycloheximide (CHX) bloque la translocation des ribosomes, stabilisant les polysomes et permettant d'immobiliser les protéines puromycinyllées sur les ribosomes. Une PLA a ensuite été réalisée à l'aide d'anticorps anti-AcMet11-Tau (2H2D11) et anti-puromycine, couplés à des sondes ribonucléotidiques fluorescentes. (B) Images représentatives de la puro-PLA dans les cellules SH-SY5Y TR/Tau, traitées ou non à l'arsénite de sodium (NaAsO₂, 20 μM, 6 h). Les signaux PLA (dots rouges) indiquent les événements de traduction d'AcMet11-Tau. DAPI (bleu) : noyaux. Les images présentées sont des Maximum Intensity Projection (MIP), générées à partir de z-stacks, à l'aide du logiciel IMARIS. L'acquisition a été réalisée avec un microscope Zeiss Spinning Disk, objectif x63 oil. Barre d'échelle = 10 μm. (C) Quantification manuelle du nombre de signaux PLA par cellule. Un traitement à l'arsénite de sodium entraîne une augmentation significative des signaux PLA, indiquant une induction de la traduction d'AcMet11-Tau (Mann-Whitney

test, **** $p < 0,0001$). Les données sont présentées comme la moyenne $\pm$ SEM et correspondent au regroupement de trois expériences indépendantes ($n=3$), incluant au moins 20 images par condition. Chaque point représente le nombre de signaux PLA par cellule et par image.

L'analyse des résultats montre qu'après 6 h de traitement à l'AS, la puro-PLA a révélé une augmentation marquée du nombre de signaux fluorescents rouges (dots rouges) dans les cellules traitées à l'AS par rapport aux cellules contrôles (**Figure 28, B**). Cette observation a été confirmée par la quantification, réalisée sur 3 expériences indépendantes, montrant une augmentation significative du nombre de dots par cellule (**Figure 28, C**).

Ces résultats apportent une preuve directe que **l'AcMet11-Tau est effectivement générée par traduction dans un contexte d'activation d'une réponse intégrée au stress**, induite par l'Arsénite de sodium.

1.5 Conclusion sur l'étude de la traduction d'AcMet11-Tau dans la lignée stable SH-SY5Y/TR Tau.

Pour conclure, le modèle basé sur la lignée stable SH-SY5Y/TR Tau nous a permis de démontrer que le **variant AcMet11-Tau est généré par un mécanisme de traduction alternative**, observé uniquement lors de **l'activation de la Réponse Intégrée au Stress**, induite par l'arsénite de sodium. Cependant, ce modèle présente certaines limites.

Tout d'abord, dans cette lignée, Tau est exprimée à partir de son ADNc, dépourvu des régions 5' et 3'UTR, pourtant essentielles dans la régulation de la traduction des protéines. Plus particulièrement, les travaux de l'équipe de notre collaborateur, le Dr F. Martin, ont montré que la taille de la séquence 5'UTR de Tau ainsi que le contexte du codon d'initiation AUG impactent la traduction de Tau et la génération du variant Met11-Tau (da Costa et al., 2024) (Perret et al., manuscrit en préparation). De plus, l'expression de Tau dans la lignée SH-SY5Y/TR est contrôlée par un promoteur fort CMV (cytomégalovirus), qui conduit à une surexpression non physiologique qui peut introduire des biais de traduction.

Malgré ces limites, ce modèle nous a néanmoins permis de démontrer pour la première fois qu'une forme N-tronquée de Tau, en l'occurrence AcMet11-Tau, est bien générée par traduction alternative dans des conditions d'induction de réponse intégrée au stress.

Pour valider ce résultat dans un modèle plus pertinent, nous avons étudié par la suite si le variant AcMet11-Tau pouvait être produit à partir du gène humain de Tau, comprenant les régions 5' et 3'UTR impliquées dans la régulation de la traduction, en utilisant les cellules LUHMES.

2 Étude de la génération du variant AcMet11-Tau à partir du gène endogène dans les cellules LUHMES

Les cellules LUHMES sont une lignée dérivée du mésencéphale humain, qui peut être différenciée en neurones post-mitotiques matures, aussi bien sur le plan morphologique que sur le plan biochimique (Lotharius et al., 2002a, 2005). Ce modèle présente un intérêt particulier car il exprime la protéine Tau humaine à partir du gène *MAPT* endogène au cours de sa différenciation, ce qui en fait un système pertinent pour l'étude de la régulation de la traduction de Tau et du variant AcMet11-Tau.

Dans ce travail, nous avons donc soumis les cellules LUHMES à un traitement à l'AS afin d'induire une ISR pour examiner la production du variant AcMet11-Tau.

Pour cela, nous avons d'abord caractérisé ce modèle en évaluant : (1) l'expression de Tau au cours de la différenciation ; (2) l'activation de l'ISR après traitement à l'AS ; (3) la génération du variant AcMet11-Tau.

2.1 Mises au point du modèle LUHMES : évaluation de l'expression de Tau

La première étape de ce travail fut de caractériser les LUHMES en termes d'expression de Tau au cours de la différenciation. Comme la détection de la protéine Tau et de son variant AcMet11-Tau dépend en amont de la transcription de son gène en ARNm, nous avons d'abord évalué l'expression de l'ARNm *MAPT*. Selon la littérature (Scholz et al., 2013; Tüshaus et al., 2021), l'ARNm de Tau commence à être exprimé à partir du cinquième jour de différenciation (J5) et son niveau d'expression augmente par la suite. Afin de vérifier cette dynamique, nous avons réalisé des analyses par qPCR à différentes cinétiques : cellules en prolifération, puis aux jours 6, 7 et 8 de différenciation, correspondants respectivement à P, J6, J7 et J8.

En accord avec les données de la littérature, nos résultats montrent une absence de transcription de Tau dans les cellules en prolifération (**Figure 29**). L'ARNm *MAPT* est détectable à partir de J6 de différenciation, avec une augmentation significative de son expression jusqu'à J8 de différenciation.

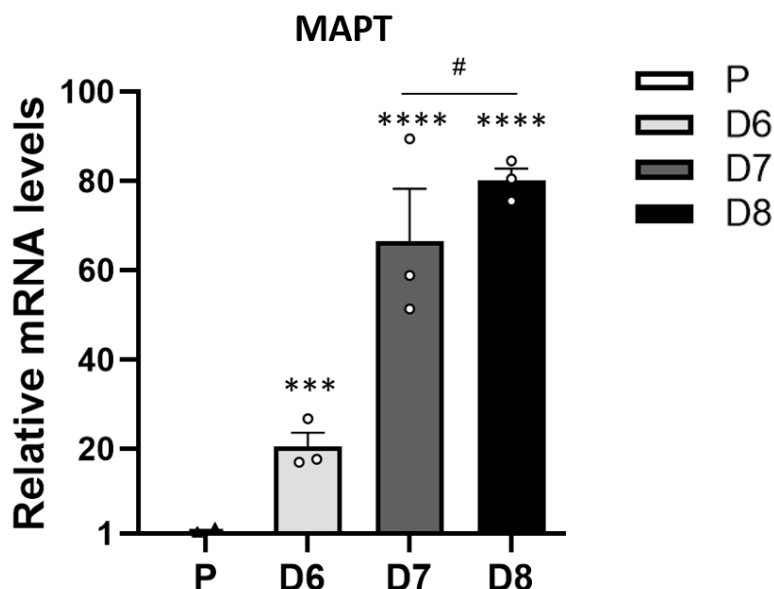


Figure 29 | Expression de l'ARNm de Tau (MAPT) au cours de la différenciation des cellules LUHMES.

Analyse par qPCR des niveaux relatifs d'expression de l'ARNm de Tau au cours de la différenciation (à J6, J7 ou J8), comparés aux cellules en prolifération (P = jour 0, fixé comme référence = 1). Les résultats sont exprimés en Fold Change et les valeurs correspondent à la moyenne $\pm$ SEM, $n = 3$ expériences indépendantes. Analyse statistique : one-way ANOVA suivie d'un test de comparaison multiple de Tukey : comparaison de chaque jour de différenciation à la condition proliférative (** $p = 0,0005$; **** $p < 0,0001$) et comparaison D6 vs D8 (# $p = 0,0497$).

2.2 Induction de la réponse intégrée au stress dans le modèle LUHMES ?

Comme pour la lignée stable SH-SY5Y/TR Tau, il a été nécessaire d'optimiser le traitement à l'AS dans les cellules LUHMES. Différentes doses ont été testées (12,5 ; 25 et 50 μM d'AS, pendant 6 h) et leur validation a reposé sur deux critères principaux : (1) l'expression d'ATF4, marqueur de l'activation de l'ISR, analysée en Western Blot, et (2) l'évaluation de la traduction générale par puromycylation et détection des protéines puromycinyllées en Western Blot.

Les résultats montrent que l'expression d'ATF4 est détectable dès 12,5 μM d'AS mais augmente significativement à partir de 50 μM d'AS, comparée à la condition sans AS (**Figure 30, A et B**). En parallèle, l'analyse des protéines puromycinyllées révèle une diminution de la traduction à partir de 25 μM d'AS, plus marquée encore à 50 μM (**Figure 30, C et D**).

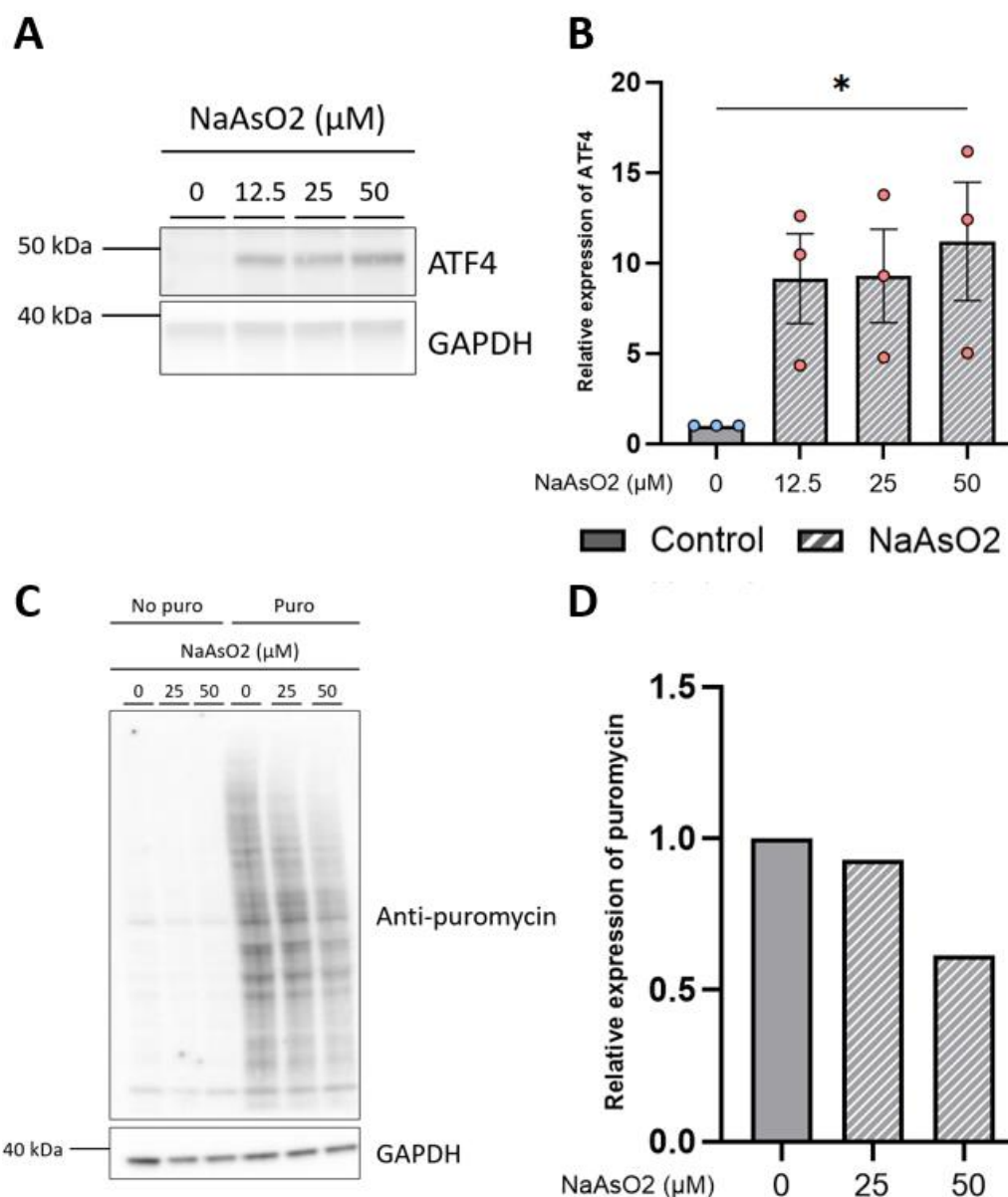


Figure 30 | La réponse intégrée au stress (ISR) est activée lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules LUHMES et induit une baisse de la traduction générale.

(A) Western Blot représentatif de l'activation de l'ISR dans les LUHMES différenciées à J9, suite à un stress induit par l'Arsénite de sodium (NaAsO₂ 0, 12,5 ; 25 ou 50 μ M, pendant 6 h) par l'analyse de l'expression d'ATF4. GAPDH : contrôle de charge protéique. (B) Quantification du signal d'ATF4 normalisé à la GAPDH, puis la valeur rapportée à la condition contrôle (0 μ M d'AS) est définie comme 1. Les valeurs correspondent à la moyenne $\pm$ SEM, n = 3 expériences indépendantes. Analyse statistique : Kruskal-Wallis suivi d'un test post hoc de Dunn, comparant chaque dose à la condition contrôle (50 μ M vs 0, *p < 0,05). (C) Western blot représentatif de la traduction générale des protéines, évaluée par un anticorps anti-puromycine. Le traitement à l'arsénite de sodium (NaAsO₂ 25 ou 50 μ M, pendant 6 h) réduit la traduction. (D) Quantification du signal de la puromycine normalisée à la GAPDH, puis rapportée à la condition contrôle (0 μ M AS), n=1. Pour les WB, dans un même encadrement, les images ont été rognées et contrastées uniformément à partir de la même image. Échelle moléculaire en kilodaltons (kDa).

Ces observations confirment que le traitement à l'AS active l'ISR dans les cellules LUHMES. Pour la suite des expériences, la condition de 50 μM d'AS pendant 6 h a été retenue, car elle permet à la fois une activation robuste de l'ISR et une inhibition de la traduction générale.

2.3 Le traitement à l'Arsénite de sodium a-t-il un effet sur l'expression de la protéine Tau totale ?

Plusieurs études ont montré que l'AS pouvait moduler l'expression génique, en induisant des altérations transcriptionnelles sur différents gènes, notamment ceux liés au métabolisme énergétique, au stress oxydant ou encore à la régulation transcriptionnelle (Chanda et al., 2008; Fallahzadeh-Abarghoeei et al., 2017; Yih et al., 2002). L'AS peut également agir indirectement via des modifications épigénétiques comme la méthylation de l'ADN, pouvant influencer l'expression de nombreux gènes (Chung et al., 2024). C'est pourquoi, après avoir validé les conditions d'activation de l'ISR dans les LUHMES, nous avons étudié si l'AS pouvait avoir un effet sur l'expression de la protéine Tau totale en Western Blot, ainsi que sur les niveaux d'expression de son ARNm MAPT en qPCR.

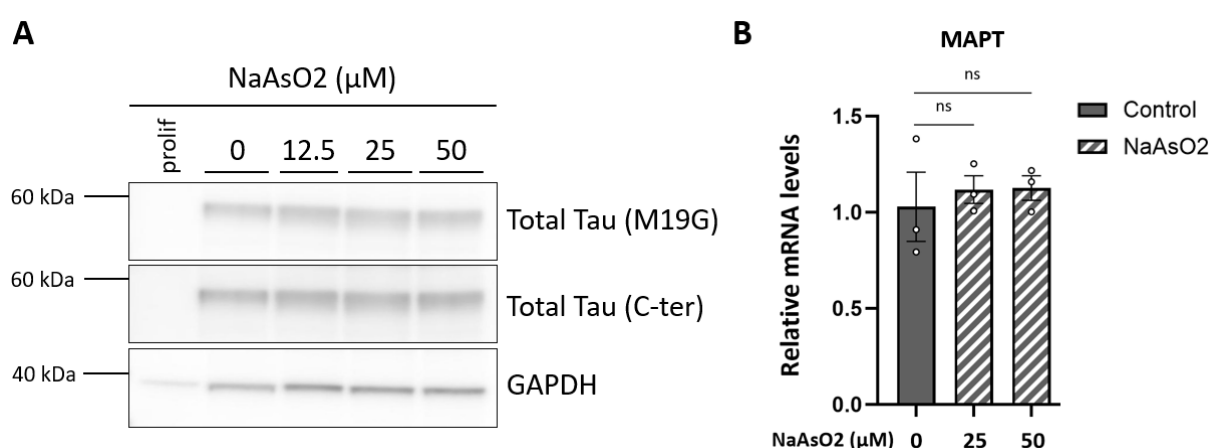


Figure 31 | Évaluation de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium sur l'expression de Tau dans les cellules LUHMES différenciées.

(A) Western Blot représentatif de l'expression de la protéine Tau dans les LUHMES différenciées à J9, après traitement à l'AS (NaAsO₂ 12,5 ; 25 ou 50 μM , pendant 6 h). La condition « prolif » (cellules en prolifération) est utilisée comme contrôle négatif pour l'expression de Tau. Deux anticorps anti-Tau ont été utilisés : le M19G (partie N-terminale) et le Tau C-ter (partie C-terminale). GAPDH : contrôle de charge. (B) Analyse par qPCR des niveaux relatifs d'expression de l'ARNm de Tau (MAPT) après traitement à l'AS (0, 25 ou 50 μM). Les résultats sont exprimés en Fold Change et les valeurs correspondent à la moyenne $\pm$ SEM, n = 3 expériences indépendantes. Aucun effet significatif n'est observé sur l'expression

de l'ARNm Tau. Analyse statistique : one-way ANOVA suivie d'un test de comparaison multiple de Tukey (0 vs 25 μ M, ns = 0,7711 ; 0 vs 50 μ M, ns = 0,7420).

Les résultats montrent, d'une part, en Western Blot, qu'aucune immunoréactivité Tau totale n'est détectée dans les cellules en prolifération (prolif). De plus, il n'y a pas de différence en termes d'expression de la protéine Tau totale avec le traitement à l'AS, comparé à la condition sans AS pour les cellules différenciées. Ceci, que ce soit en utilisant un anticorps reconnaissant la partie C-terminale (C-ter) ou reconnaissant la partie N-terminale (M19G) (**figure 31, A**). L'AS n'a donc pas d'effet sur l'expression de la protéine Tau. Nous avons donc voulu vérifier que l'AS n'avait pas d'effet sur l'expression de l'ARNm de Tau. Les résultats de la qPCR MAPT indiquent qu'il n'y a pas de différence dans les niveaux d'expression de l'ARNm MAPT lors d'un traitement avec l'AS, que ce soit avec 25 ou 50 μ M, comparé à la condition sans AS (**figure 31, B**).

Pour conclure, **l'AS n'a pas d'effet sur la transcription du gène de Tau**. Les effets potentiels de l'AS observés par la suite, notamment sur l'expression du variant AcMet11-Tau, sont donc uniquement dus à des mécanismes impliquant la traduction.

2.4 Le variant AcMet11-Tau est-il généré lors d'un traitement à l'Arsénite de sodium dans les cellules LUHMES ?

Après avoir validé les conditions d'activation de l'ISR et confirmé que l'AS n'avait aucun effet sur la transcription du gène *MAPT*, nous avons étudié la production du variant AcMet11-Tau dans les cellules LUHMES. Pour cela, nous avons cherché à déterminer par immunocytochimie si AcMet11-Tau était généré dans les mêmes cellules présentant une activation de l'ISR, marquée par ATF4.

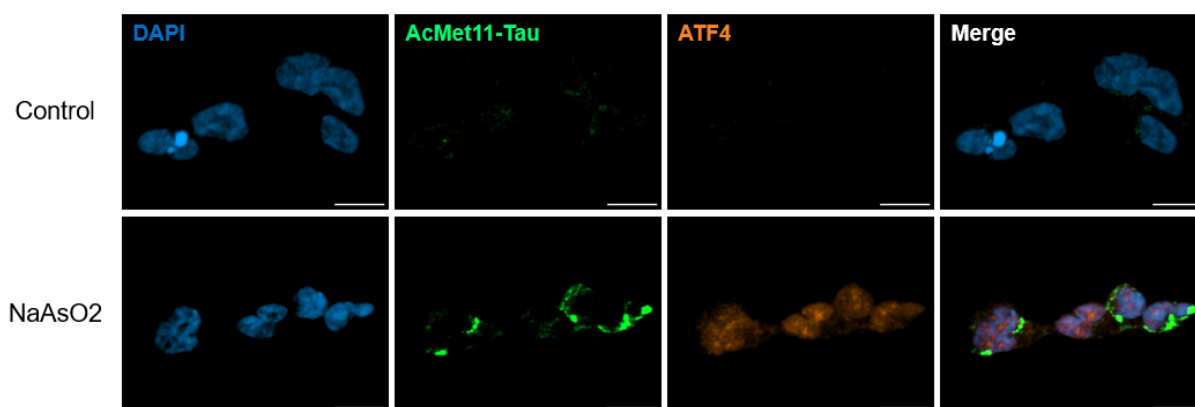


Figure 32 | Le variant AcMet11-Tau est généré lors d'une réponse intégrée au stress dans les cellules LUHMES.

Immunocytochimie à fluorescence illustrant l'expression d'AcMet11-Tau (anticorps 2H2D11, signal vert) dans les cellules LUHMES différenciées à J8 et traitées à l'AS (NaAsO₂ 50 µM, 6 h). L'expression du variant est observée dans les mêmes cellules présentant une activation de l'ISR (anticorps ATF4, signal orange). DAPI : marqueur du noyau cellulaire (signal bleu). Le Merge correspond à la superposition des images obtenues avec le DAPI, le 2H2D11 et ATF4. Les images présentées sont des Maximum Intensity Projection (MIP), générées à partir de z-stacks, à l'aide du logiciel IMARIS. L'acquisition a été réalisée avec un microscope Zeiss Spinning Disk, objectif x63 oil. Le temps d'acquisition, l'exposition et les contrastes sont identiques pour chaque image et rapportés au contrôle négatif (sans anticorps primaire). Barre d'échelle : 10 µm.

Les résultats d'ICC montrent que l'AcMet11-Tau est détecté uniquement à la suite d'un traitement à l'AS, avec un marquage ponctiforme et périnucléaire (**Figure 32**). En parallèle, ATF4 est également exprimé exclusivement dans ces conditions, présentant un signal plus diffus, principalement nucléaire.

Nous avons également réalisé un co-marquage combinant soit un anticorps dirigé contre la partie N-terminale de Tau (M19G), soit un anticorps reconnaissant la partie C-terminale (C-ter), en parallèle du marquage AcMet11-Tau. Cette stratégie permet non seulement d'évaluer une éventuelle colocalisation, mais aussi d'analyser plus finement la distribution subcellulaire de Tau et de comparer son profil avec celui du variant AcMet11-Tau.

Dans un premier temps, nous avons utilisé l'anticorps M19G, dirigé contre l'extrémité N-terminale, qui ne reconnaît pas la forme tronquée AcMet11-Tau mais uniquement la protéine Tau entière. Cette spécificité a été confirmée par Western Blot (**Figure 33, A**), en utilisant des lignées cellulaires stables développées au laboratoire, exprimant uniquement la forme entière de Tau (FL Tau cells) ou uniquement la forme tronquée AcMet11-Tau (AcMet11-Tau cells). Les résultats indiquent que le M19G détecte préférentiellement les formes entières de Tau (cellules FL Tau), tandis que l'anticorps 2H2D11 cible spécifiquement le variant AcMet11-Tau (cellules AcMet11-Tau). En immunocytochimie, le marquage M19G apparaît diffus dans le noyau et le cytoplasme, sans colocalisation marquée avec le signal AcMet11-Tau (**Figure 33, B**).

Nous avons également utilisé l'anticorps dirigé contre l'extrémité C-terminale de Tau, qui reconnaît toutes les formes, y compris la forme tronquée AcMet11-Tau (**Figure 33, C**). Comme attendu, le signal AcMet11-Tau (2H2D11) n'est détecté qu'après traitement à l'AS et colocalise avec le marquage obtenu avec l'anticorps Tau C-ter. Ce dernier présente un signal globalement plus diffus, mais qui devient ponctiforme dans les zones où il se superpose avec AcMet11-Tau.

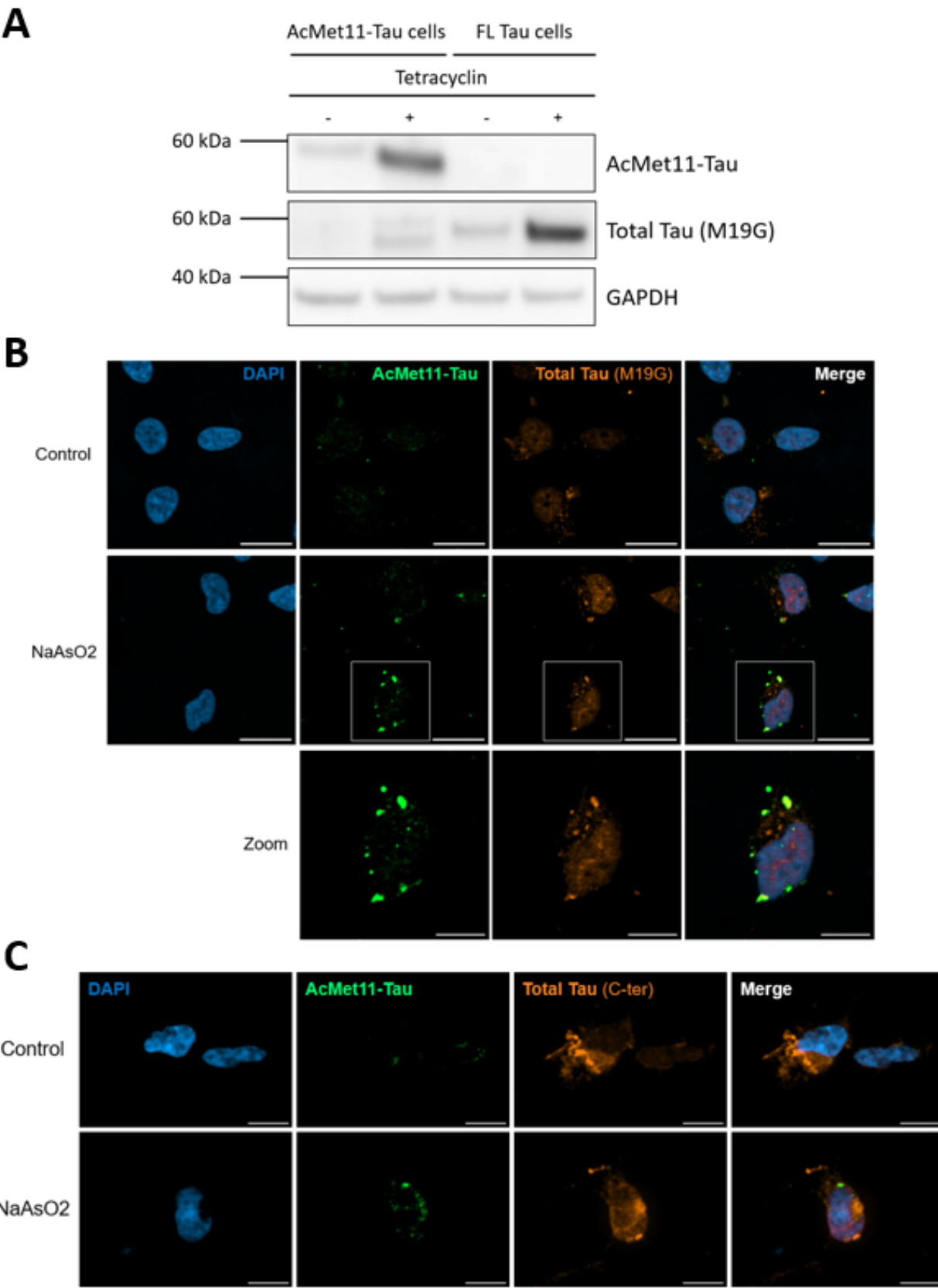


Figure 33 | Co-marquage de l'AcMet11-Tau avec différents anticorps anti-Tau dans les cellules LUHMES.

(A) Western Blot illustrant la spécificité des anticorps 2H2D11 et M19G. Les cellules « AcMet11-Tau » expriment uniquement le variant AcMet11-Tau, tandis que les cellules « Full-Length Tau » expriment la forme entière de Tau. L'expression de Tau est induite par la tétracycline. GAPDH : contrôle de charge. (B) et (C) Immunocytochimie à fluorescence illustrant l'expression du variant AcMet11-Tau (anticorps 2H2D11, signal vert), en co-marquage avec, respectivement, l'anticorps Tau C-Ter et l'anticorps M19G (Tau N-Ter). Les cellules LUHMES sont différenciées à J7 et traitées ou non à l'AS (NaAsO₂ 50 µM, 6 h). Le DAPI marque les noyaux (signal bleu). Les images présentées sont des Maximum Intensity Projection (MIP), générées à partir de z-stacks, à l'aide du logiciel IMARIS. L'acquisition a été réalisée avec un microscope Zeiss Spinning Disk, objectif x63 oil. Les paramètres d'acquisition (temps d'exposition et contrastes) sont identiques entre les conditions et normalisés au contrôle négatif (sans anticorps primaire). Barres d'échelle : 10 µm et zoom 20 µm.

Ces observations confirment que **l'AcMet11-Tau est spécifiquement induite en conditions de stress par l'AS** dans les cellules LUHMES et peut être distinguée de la protéine Tau entière, détectée par l'anticorps M19G. Alors que Tau totale reste globalement inchangée en termes d'expression, le variant tronqué AcMet11-Tau apparaît de manière spécifique et colocalise avec l'anticorps C-ter.

En conclusion, ces résultats démontrent que le variant **AcMet11-Tau peut également être généré dans les cellules LUHMES à la suite d'une activation de l'ISR induite par l'AS**. Son expression est possible à partir du gène et du promoteur endogène humain de Tau.

Discussion du 1^{er} chapitre cellulaire : étude du mécanisme de génération du variant AcMet11-Tau dans des modèles cellulaires de stress

Dans l'ensemble, nos travaux confirment que l'arsénite de sodium (AS) constitue un inducteur robuste de la réponse intégrée au stress (ISR) dans nos modèles cellulaires. Ce traitement entraîne une baisse de la traduction globale, mise en évidence par la méthode de puromycylation, permettant de visualiser les protéines en cours de synthèse, mais active des mécanismes de traduction alternatifs, comme l'atteste l'expression d'ATF4. C'est précisément dans ce contexte que nous avons montré que l'AcMet11-Tau n'est produit que lors d'une activation de l'ISR et que sa génération est le résultat d'un événement de traduction. Ces résultats suggèrent que l'AcMet11-Tau émerge d'un mécanisme de traduction non conventionnel pour Tau, exploitant des sites alternatifs de traduction lorsque le système de traduction classique est perturbé.

Mécanismes de traduction dans des conditions de stress : quelques hypothèses

Dans ce chapitre, nous avons mis en évidence que le variant AcMet11-Tau peut être traduit non seulement à partir de l'ADNc de Tau, dépourvu de régions régulatrices 5' et 3'UTR (SH-SY5Y/TR Tau), mais également à partir du gène humain endogène dans les cellules LUHMES. Cette observation dans les LUHMES est particulièrement importante, car elle intègre les régions 5' et 3' UTR, comprenant l'ensemble des facteurs *cis* et *trans* impliqués dans la régulation de la traduction, comme expliqué dans l'introduction. Ces résultats complètent les travaux réalisés par nos collaborateurs de l'IBMC à Strasbourg. En effet, nos collaborateurs, par des expériences de traduction *in vitro*, en se basant sur des ARNm de Tau avec des régions 5'UTR courtes, spécifiquement retrouvés dans les cerveaux de patients atteints de la MA et autres tauopathies, comme la maladie de Pick ou les FTLD (Huin et al., 2017) ont pu montrer que le raccourcissement de la région 5'UTR favorisait la traduction de la protéine Tau entière, mais également la traduction d'AcMet11-Tau (da Costa et al., 2024). Ces résultats peuvent alors expliquer le fait que la traduction du variant AcMet11-Tau soit possible dans les cellules SH-SY5Y/TR Tau, à partir de l'ADNc.

De plus, nos collaborateurs ont étudié les facteurs *cis* sur l'ARNm de Tau, pouvant influencer la traduction de manière générale, et celle de l'AcMet11-Tau. Ils ont notamment mis en évidence des motifs répressifs, de type UCC, présents dans les ARNm de Tau avec une séquence 5'UTR longue, mais

pas quand la taille du 5'UTR est inférieure à 35 nucléotides, pouvant expliquer que la traduction soit plus efficace avec des séquences 5'UTR plus courtes. De plus, ils ont mis en évidence des structures de type G-quadruplex, à proximité du codon de la méthionine 11, pouvant impacter les mécanismes d'initiation de la traduction (Perret et al., manuscrit en préparation). Toutes ces découvertes conduisent à plusieurs hypothèses sur les mécanismes impliqués dans la traduction de formes N-tronquées, en conditions de stress. En effet, une réponse intégrée au stress va perturber les mécanismes de traduction canoniques, mais la cellule va s'adapter en contournant le système général et en mettant en place des mécanismes de traduction alternatifs. On peut alors émettre l'hypothèse que, peut-être, lors d'une réponse intégrée au stress, un phénomène de leaky scanning du premier codon Met1 peut avoir lieu, en favorisant alors la traduction à partir du codon de la méthionine 11. Ce mécanisme pourrait être favorisé par différents facteurs *cis* tels que la taille de la région 5'UTR, les motifs répressifs, les structures en G-quadruplex et également les facteurs *trans*.

Une partie de ce projet visait également à étudier la région 5'UTR entière de Tau, dans des conditions physiologiques ou en conditions de stress, induit avec l'Arsénite de sodium, par la technique de Long Read Sequencing. Des résultats préliminaires, à partir d'ARNm extraits de cellules LUHMES différenciées, avec ou sans traitement à l'AS, ont permis de faire des premières découvertes très intéressantes et prometteuses. Des ARNm de Tau présentant des 5'UTR avec des tailles différentes ont été découverts dans les cellules traitées à l'AS, par comparaison aux cellules contrôles, suggérant que l'AS a un impact sur la taille des parties 5'UTR de Tau. De plus, des ARN non codants de Tau ont également été découverts uniquement dans les conditions avec l'AS. Ces découvertes conduisent à se poser des questions sur la régulation de la traduction de l'ARNm de Tau, qui est aujourd'hui très peu étudiée. En effet, beaucoup de recherches sont réalisées sur l'étude de l'épissage de Tau et les modifications post-traductionnelles de la protéine Tau, mais très peu sur la traduction de Tau. De plus en plus d'études mettent en lien des dérégulations de la traduction avec certaines pathologies, dont le cancer, le diabète ou encore les maladies neurodégénératives. En savoir plus sur les mécanismes de dérégulation de la traduction, impliqués dans le développement de la MA par exemple, permettrait de mieux comprendre la physiopathologie de ce type de pathologie.

Arsénite de sodium et localisation de la traduction : hypothèse des granules de stress ?

Plusieurs difficultés ont été rencontrées dans cette partie du projet portant sur les modèles cellulaires. Des expériences complémentaires n'ont pas pu être menées à terme en raison de difficultés techniques, notamment liées à la culture des cellules LUHMES. Ces aléas ne nous ont pas permis d'étudier, comme prévu, la localisation subcellulaire de la traduction de Tau entière et du variant

AcMet11-Tau, en conditions normales ou de réponse intégrée au stress dans les cellules LUHMES différenciées. Des approches de PLA avec des marqueurs ribosomiques tels que RPL22 pourraient permettre de localiser plus précisément le site subcellulaire de la traduction et d'évaluer si celle-ci pouvait être délocalisée lors d'un stress. RPL22 (Ribosomal Protein L22) est une protéine constitutive de la grande sous-unité 60S du ribosome, souvent utilisée comme marqueur de la machinerie de traduction active.

Dans les neurones, la traduction des ARNm est un processus spatialement régulé, notamment dans les dendrites et les axones, où elle permet une synthèse protéique locale essentielle à la plasticité synaptique et à la réponse aux signaux environnementaux. Cependant, les conditions de stress cellulaire, qu'il s'agisse de stress oxydatif, métabolique ou du réticulum endoplasmique, peuvent perturber cette organisation. L'activation de l'ISR entraîne une inhibition globale de la traduction et la formation de granules de stress (stress granules, SGs) dans le cytoplasme. Ces structures dynamiques séquestrent temporairement certains ARNm, des facteurs d'initiation et des protéines associées à la traduction, provoquant une redistribution des ARNm et un arrêt de la traduction locale dans les compartiments distaux (Yuan et al., 2025). Dans les neurones, cette redistribution se traduit par un rapatriement des ARNm des compartiments synaptiques vers le soma, où ils sont stockés ou dégradés selon la nature du stress, entraînant une diminution de la synthèse protéique locale, ce qui peut altérer la plasticité synaptique et la mémoire in fine (Wolozin, 2012). Des études ont notamment montré qu'un stress avec l'AS pouvait induire la formation de granules de stress. Par exemple, dans des cultures de neurones primaires, un traitement à 0,5 mM d'AS pendant 20 minutes provoque l'apparition de ponctuations cytoplasmiques de protéines marquées par TIA-1 et HuR dans le soma et les neurites, accompagnée d'une augmentation de p-eIF2 α (Tsai et al., 2009). L'arsénite de sodium est ainsi qualifié «d'inducteur canonique» de SGs, et leur assemblage joue un rôle clé dans certaines réponses cellulaires au stress, comme la signalisation de la mort cellulaire (nécroptose) dans des cellules stimulées par l'interféron (Szczerba et al., 2023). Des travaux montrent que l'assemblage induit par l'arsénite dépend de voies de signalisation comme l'activation de la kinase HRI en réponse aux ROS (Basu et al., 2017). Fait intéressant, plusieurs travaux sur des modèles animaux, notamment les souris transgéniques P301S, ont montré que la protéine Tau interagit avec les granules de stress. En conditions de stress, Tau peut se redistribuer dans le cytoplasme et colocaliser avec des marqueurs de SGs, tels que TIA-1 ou G3BP1. Cette interaction favoriserait la stabilisation et la persistance anormale des SGs, contribuant à l'agrégation de Tau et à la formation d'inclusions pathologiques observées dans les tauopathies (Apicco et al., 2018; Vanderweyde et al., 2016). Ainsi, l'induction des SGs par l'arsénite constitue non seulement un modèle pertinent pour étudier la traduction en contexte de stress, mais

aussi un outil pour explorer le lien fonctionnel entre Tau et les granules de stress dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer.

Dans ce contexte, il est plausible que, dans nos modèles cellulaires traités à l'AS, les ARNm de Tau soient temporairement relocalisés vers ces granules, ce qui pourrait avoir des conséquences sur la traduction locale ou la disponibilité des ARNm. Dans cette optique, nous avons testé un marqueur des SGs, TIA-1, dans les cellules SH-SY5Y/TR Tau traitées à l'AS, en co-marquage avec AcMet11-Tau ou la protéine Tau totale. Nos résultats préliminaires ont révélé l'apparition de ponctuations cytoplasmiques, dans les cellules traitées à l'AS uniquement, qui colocalisaient avec Tau ou AcMet11-Tau. Toutefois, des contraintes techniques n'ont pas permis d'approfondir cette piste dans les cellules neuronales LHUMES qui sont plus appropriées pour l'étude de la localisation subcellulaire de la traduction.

Ainsi, la réponse intégrée au stress reprogrammerait spatialement et qualitativement la traduction neuronale, modifiant le paysage protéique local et contribuant potentiellement à la vulnérabilité différentielle des neurones dans les maladies neurodégénératives.

En conclusion, ce chapitre met en évidence que le traitement à l'arsénite de sodium induit l'activation de la réponse intégrée au stress et que, dans ce contexte, le variant AcMet11-Tau est généré par un mécanisme de traduction alternative. Bien que certains aspects restent à approfondir, notamment le rôle précis des régions régulatrices 5'UTR et la localisation subcellulaire de la traduction, ces résultats soulignent le lien étroit entre l'activation de l'ISR et la dérégulation de la traduction, mettant en évidence que les conditions de stress peuvent moduler la traduction de Tau. Ainsi, l'étude de l'AcMet11-Tau pourrait ouvrir la voie à de nouvelles hypothèses dans l'étude des mécanismes pathologiques de Tau, associés à la maladie d'Alzheimer.

Chapitre 2 : Étude *in vivo* de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium sur la génération du variant AcMet11-Tau et le développement de la pathologie Tau

De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre l'exposition chronique à l'arsenic et l'apparition de déficits cognitifs. En effet, comme dit précédemment, chez l'enfant, une exposition environnementale à l'arsenic dans l'eau de boisson est associée à des troubles du développement et à une diminution des performances en mémoire et en apprentissage (Garza-Lombó et al., 2019). Chez l'adulte, plusieurs travaux rapportent une augmentation du risque de développer la MA dans les régions où la population est exposée à des concentrations élevées d'arsenic, suggérant un rôle potentiel de ce contaminant environnemental comme facteur de risque de démence (Ahmed et al., 2025; Rahmani et al., 2023). Des hypothèses mécanistiques proposent que l'arsenic pourrait contribuer à la physiopathologie de la MA en favorisant l'hyperphosphorylation de Tau, la production du peptide amyloïde, le stress oxydant et l'activation de réponses cellulaires au stress (Rahman et al., 2021).

Ces observations épidémiologiques sont renforcées par des travaux chez l'animal. Dans différents modèles de rongeurs (rats ou souris), l'administration chronique d'AS induit des altérations significatives de l'apprentissage et de la mémoire, associées à des dysfonctionnements hippocampiques, des modifications synaptiques et une activation du stress du réticulum endoplasmique (RE) (L. Cheng et al., 2024; Jing et al., 2012; Xiong et al., 2021). Certaines études rapportent également une activation de l'ISR, suggérant que ce mécanisme pourrait contribuer aux effets neurotoxiques de l'arsenic. Ces études positionnent alors l'AS comme un agent pertinent pour développer des modèles expérimentaux pour étudier le lien entre les facteurs environnementaux, l'activation de l'ISR et la pathologie Tau.

Dans le contexte de ces travaux, et au regard de nos résultats obtenus dans des modèles cellulaires, où l'AS s'est révélé être un inducteur efficace de l'ISR, nous avons cherché à évaluer si ce composé pouvait également activer cette voie *in vivo*. Le deuxième objectif de ce projet a donc été d'évaluer les effets d'un traitement chronique à l'AS sur l'activation de l'ISR, sur la génération

d'AcMet11-Tau et, plus largement, sur les conséquences physiopathologiques associées dans un modèle murin pertinent. Pour cela, nous avons utilisé la lignée de souris transgéniques Thy-Tau 22, un modèle bien établi de tauopathie caractérisé par le développement progressif d'une pathologie Tau et de déficits mnésiques.

1 Approche expérimentale : le modèle de souris transgéniques Thy-Tau 22

1.1 Choix de la lignée transgénique Thy-Tau 22

Ce modèle surexprime une protéine Tau humaine 1N4R comportant deux mutations pro-agrégatives (P301S et G272V), sous le contrôle d'un promoteur neuronal Thy1.2 (*Figure 34, A*) (Schindowski et al., 2006). Ce modèle, développé au sein du laboratoire, développe une pathologie Tau progressive dans l'hippocampe débutant aux alentours de 3 mois, et accentuée avec l'âge, associée à des altérations de la mémoire détectables à partir de l'âge de 6 mois. Le variant AcMet11-tau est détecté précocement dans l'hippocampe de ces souris, notamment dans les neurones en DNF, dès l'âge de 3 mois, et est corrélé au développement de la pathologie Tau et au déclin cognitif associé (Guedjda et al., 2025). (*Figure 34, B*)

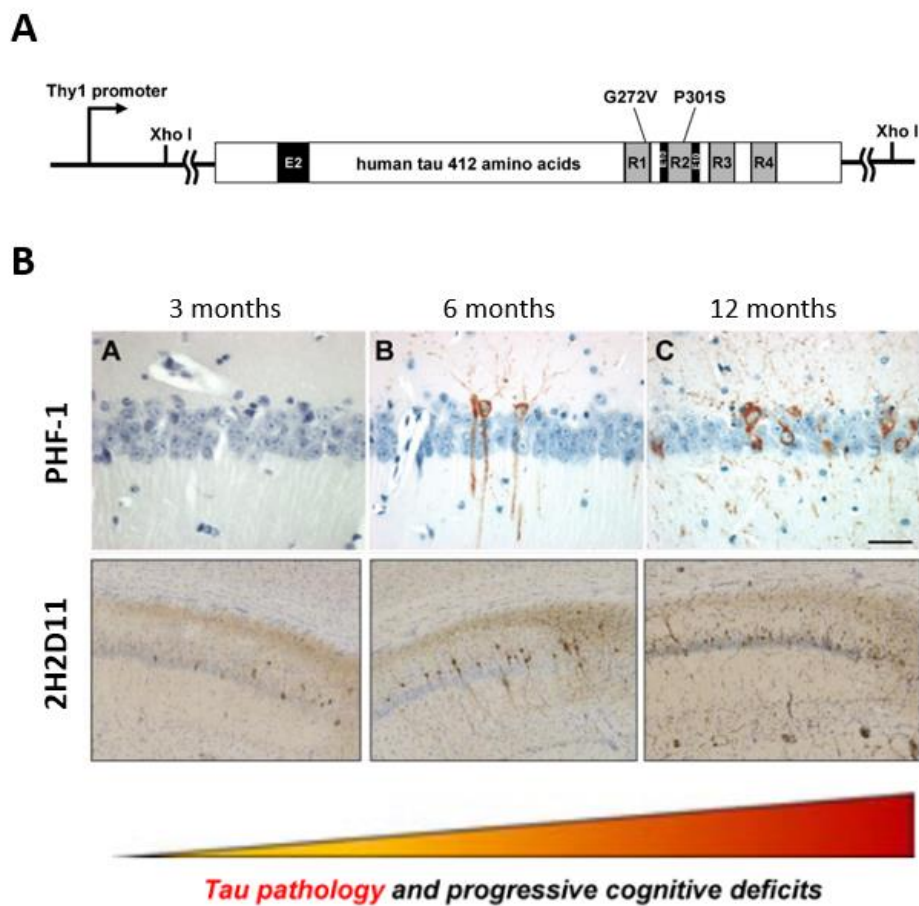


Figure 34 | Lignée transgénique Thy-Tau 22 et développement de la pathologie Tau.

(A) Cette lignée surexprime l'isoforme 1N4R de la protéine Tau humaine, comprenant les mutations pro-agrégatives G272V et P301S, sous le contrôle du promoteur neuronal Thy1.2. (B) Immunohistochimie représentant la progression de la pathologie Tau avec l'âge au sein de l'hippocampe (à 3, 6 et 12 mois), visualisée par l'anticorps PHF-1 (phosphorylation pathologique de Tau), associée à l'expression du variant AcMet11-Tau, visualisée par l'anticorps 2H2D11, l'ensemble associé au déclin cognitif. Figure adaptée de (Schindowski et al., 2006; Guedjda et al., 2025).

Grâce à ces caractéristiques neuropathologiques et comportementales, la lignée Thy-Tau 22 constitue un modèle pertinent pour étudier les mécanismes moléculaires de la pathologie Tau, le rôle de la réponse intégrée au stress (ISR) sur la production d'AcMet11-Tau, ainsi que ses conséquences sur la dysfonction cognitive.

1.2 Protocole expérimental de l'étude de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium chez les souris Thy-Tau 22

Nous avons réalisé une étude dans laquelle nous avons administré un traitement à l'AS à une concentration de 10 mg/L dans l'eau de boisson des souris Thy-Tau 22, dès l'âge de 2 mois et pendant une durée totale de 3 mois. Des tests de mémoire et d'anxiété ont été réalisés à deux temps : après 2 mois de traitement (à l'âge de 4 mois), afin de tester les souris avant l'apparition des déficits observés dans l'étude pilote, puis après 3 mois (à l'âge de 5 mois), en fin de traitement. Les analyses comprenaient des tests de motricité et d'anxiété (Open Field), ainsi qu'une évaluation de la mémoire spatiale à court terme (Y-Maze). Au moment de la mise à mort des animaux, différents prélèvements tissulaires ont été réalisés : le sang et un héli-cortex pour le dosage de l'arsenic plasmatique et cortical, un héli-hippocampe pour les analyses biochimiques et moléculaires (Western Blot, ELISA et qPCR), et un hémisphère entier pour les analyses immunohistochimiques (*Figure 35*).

Protocole expérimental - Traitement à l'Arsénite de Sodium THY-Tau22

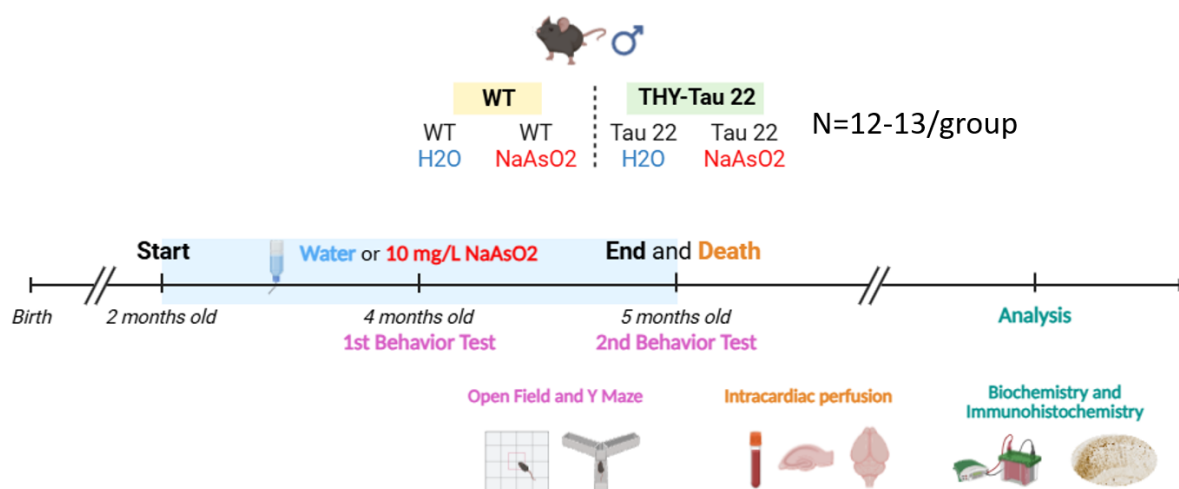


Figure 35 | Protocole expérimental du traitement à l'Arsénite de sodium chez les souris Thy-Tau 22.

Les souris WT et Thy-Tau 22 ont été réparties en quatre groupes (N = 12-13 par groupe) recevant soit de l'eau (H2O), soit de l'AS (NaAsO2, 10 mg/L) à partir de l'âge de 2 mois. Deux séries de tests comportementaux (Open Field et Y-Maze) ont été réalisées à 2 ou 3 mois après le début du traitement à l'AS. À l'âge de 5 mois, les souris sont mises à mort et les tissus (hippocampe et cortex) sont collectés pour des analyses biochimiques et immunohistochimiques. Le cortex et le sang sont collectés pour le dosage de l'arsenic.

2 Étude de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium chez les souris Thy-Tau 22

2.1 Évaluation de la tolérance physiologique au traitement à l'Arsénite de sodium

Afin de s'assurer que le traitement à l'AS n'induisait pas d'effets indésirables sur l'état général des animaux, nous avons suivi hebdomadairement le poids et la consommation d'eau des souris tout au long de l'expérience.

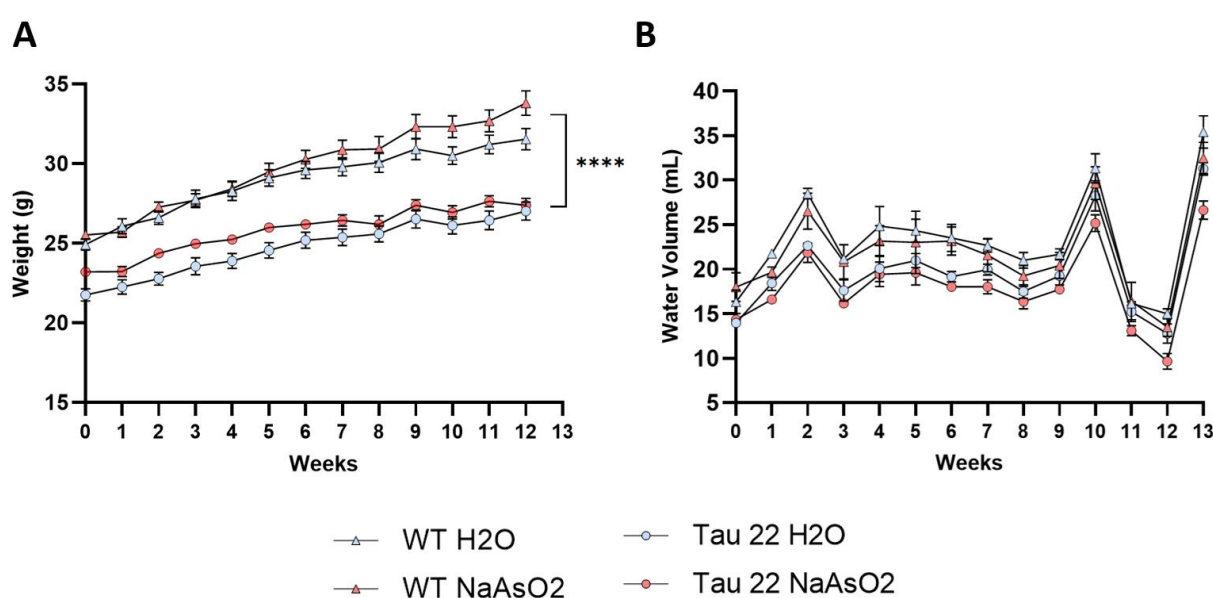


Figure 36 | Suivi du poids et de la consommation d'eau des souris durant le traitement à l'Arsénite de sodium.

(A, B) Suivi hebdomadaire du poids (en g) et de la consommation d'eau (en mL) des quatre groupes expérimentaux, de la première à la dernière semaine de traitement. La semaine 0 correspond à la semaine avant le début du traitement. Les valeurs sont présentées comme la moyenne du groupe $\pm$ SEM, $n = 12$ à 13 souris par groupe. Le traitement à l'AS n'a pas entraîné de modifications significatives du poids ni de la consommation d'eau. Comme attendu, les souris WT présentent un poids significativement plus élevé que les souris Thy-Tau 22. Analyse statistique: One-way ANOVA suivie d'un test de Tukey (WT H2O vs Tau22 H2O, **** $p < 0,0001$).

L'analyse du poids corporel n'a révélé aucune différence significative entre les groupes traités à l'eau et ceux traités à l'AS, aussi bien chez les souris WT que chez les Tau22 (**Figure 36, A**). Comme attendu, les souris Tau22 présentent un poids plus faible que les WT, indépendamment du traitement, un phénotype déjà connu pour cette lignée.

De la même manière, la consommation d'eau ne diffère pas entre les groupes traités à l'eau ou à l'AS : quelle que soit la condition, les souris consomment en moyenne la même quantité d'eau par semaine. Les variations observées, notamment entre la 11^{ème} et la 12^{ème} semaine, sont similaires entre les groupes, suggérant qu'elles sont liées aux conditions d'hébergement plutôt qu'au traitement (**Figure 36, B**).

En conclusion, le traitement chronique à l'AS n'a impacté ni le poids, ni la consommation d'eau des animaux, confirmant que **les souris ont bien toléré le protocole expérimental**.

2.2 Évaluation comportementale des souris Thy-Tau 22, après 2 mois de traitement à l'arsénite de sodium

Deux mois après le début du traitement, à l'âge de 4 mois, un premier test comportemental a été réalisé afin d'évaluer l'état anxieux des souris à l'aide de l'Open Field, ainsi que leur mémoire spatiale à court terme avec le test du Y-Maze. L'objectif était de déterminer si l'exposition chronique à l'AS pouvait accélérer l'apparition des altérations cognitives chez les souris Thy-Tau 22, normalement présentes à partir de l'âge de 6 mois.

2.2.1 Analyse de l'anxiété et de l'activité locomotrice : test de l'Open Field

Ce test repose sur le comportement inné des rongeurs, qui tendent à éviter les zones ouvertes, lumineuses et centrales de l'arène pour privilégier les zones proches des murs, dans l'obscurité, perçues comme plus sécurisantes. Toute modification de ce comportement peut ainsi refléter un phénotype anxieux altéré, comme cela a été décrit chez les souris Thy-Tau 22 à un âge plus avancé, avec l'apparition d'un phénotype dit « fearless », ou manque de peur.

L'analyse de la locomotion ne montre aucune différence significative entre les groupes : la distance totale parcourue et la vitesse moyenne sont similaires quel que soit le génotype (WT ou Tau22) ou le traitement (eau vs AS) (**Figure 37, A et B**). Ces résultats indiquent que ni l'AS après 2 mois de traitement ni le génotype à l'âge de 4 mois n'affectent les fonctions motrices.

Concernant l'anxiété, les mesures du temps passé dans la zone centrale ou le long des parois de l'arène ne révèlent pas de différences significatives entre les groupes. Les souris WT et Tau22, qu'elles soient traitées à l'eau ou à l'AS, présentent un comportement normal, préférant les zones proches des murs comme attendu pour des souris de cet âge (**Figure 37, C et D**).

Open Field – 2 mois de traitement à l'AS

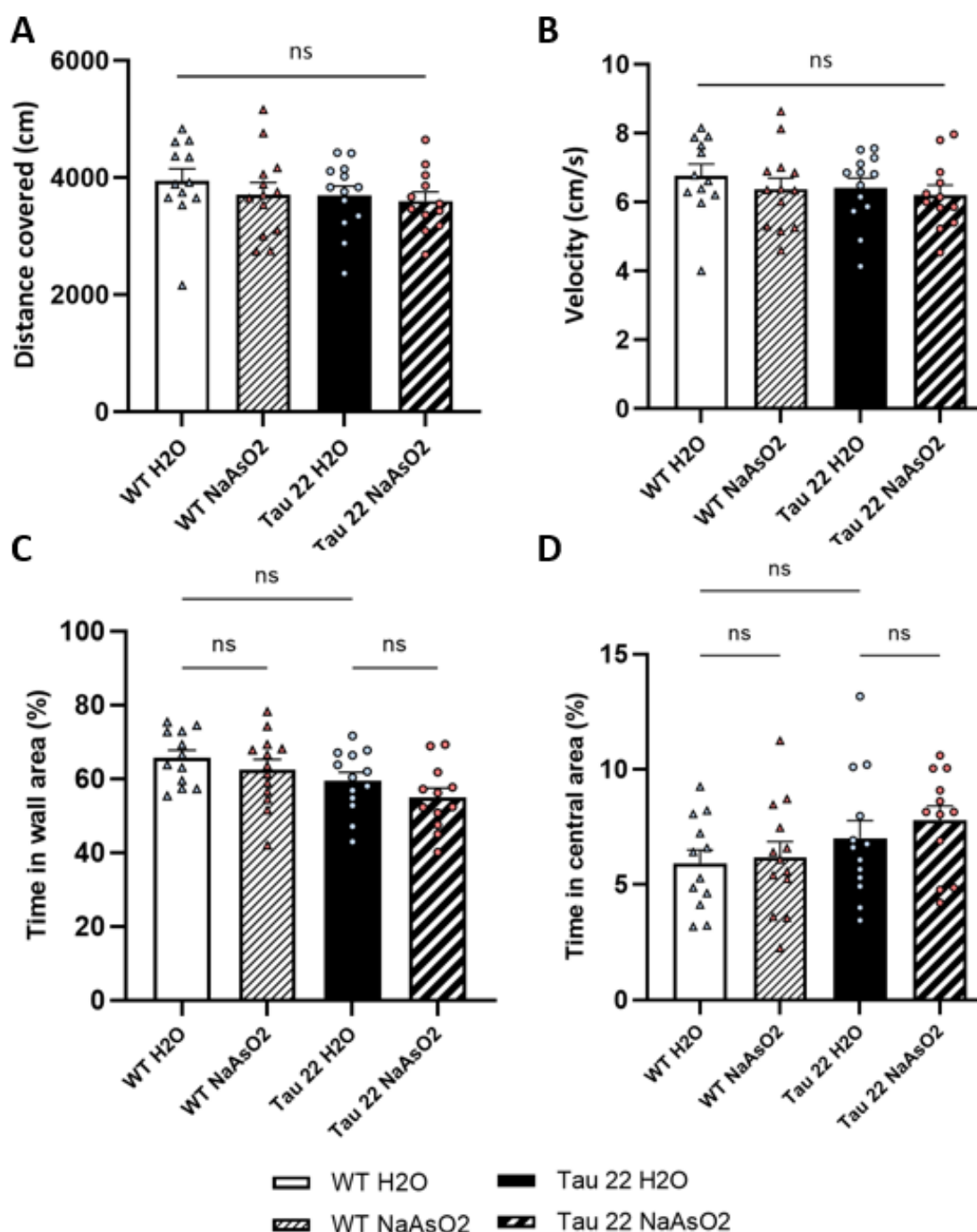


Figure 37 | Évaluation des performances des souris dans l'Open Field après deux mois de traitement à l'Arsénite de sodium.

(A) Distance totale parcourue dans l'arène (cm). (B) Vitesse moyenne (cm/s). (C) Pourcentage de temps passé à proximité des murs. (D) Pourcentage de temps passé au centre de l'arène. Aucun effet significatif du traitement à l'AS ni du génotype n'a été observé pour l'ensemble de ces paramètres. Résultats exprimés en moyenne $\pm$ SEM ($n = 12-13$ par groupe). Analyse statistique : One-way ANOVA suivie d'un test de Tukey. (ns = non significatif ; $p < 0,05$).

Après 2 mois de traitement, l'AS n'induit **aucun effet sur l'état anxieux et la locomotion** des souris. De plus, à l'âge de 4 mois, les souris Tau22 ne présentent pas encore le phénotype fearless déjà décrit dans la littérature.

2.2.2 Évaluation de la mémoire spatiale à court terme : le labyrinthe en Y

Nous avons ensuite évalué la mémoire spatiale à court terme des souris à l'aide du labyrinthe en Y (Y-Maze). Ce test repose sur la capacité des souris à explorer un environnement nouveau : après une phase d'apprentissage, le temps passé dans le bras nouvellement ouvert (N) est comparé à celui passé dans l'ancien bras (O) (**Figure 38, A**).

Comme attendu, les souris WT eau, qui sont notre groupe contrôle positif du bon fonctionnement du test, passent significativement plus de temps dans le nouveau bras comparé à l'ancien bras (N vs O : $**p = 0,0077$) (**Figure 38, B**). De manière similaire, les souris WT AS présentent également une préférence significative pour le nouveau bras (N vs O : $*p = 0,0272$), confirmant que ces animaux apprennent et mémorisent correctement la tâche.

Chez les Tau22 eau, les résultats sont plus variables : la tendance est bien présente en faveur du nouveau bras N comparé à l'ancien ($p = 0,0571$), mais deux souris montrent une nette préférence pour l'autre bras, ce qui reflète une hétérogénéité intra-groupe. Toutefois, les Tau22 traitées à l'AS montrent une exploration claire et significative du nouveau bras ($****p < 0,0001$), traduisant une bonne mémoire spatiale à court terme.

Enfin, l'analyse de la distance parcourue et de la vitesse moyenne ne révèle aucune différence entre les groupes, ce qui confirme que les résultats observés reflètent exclusivement des performances mnésiques, indépendamment de la locomotion (**Figure 38, C et D**).

Y-Maze – 2 mois de traitement à l'AS

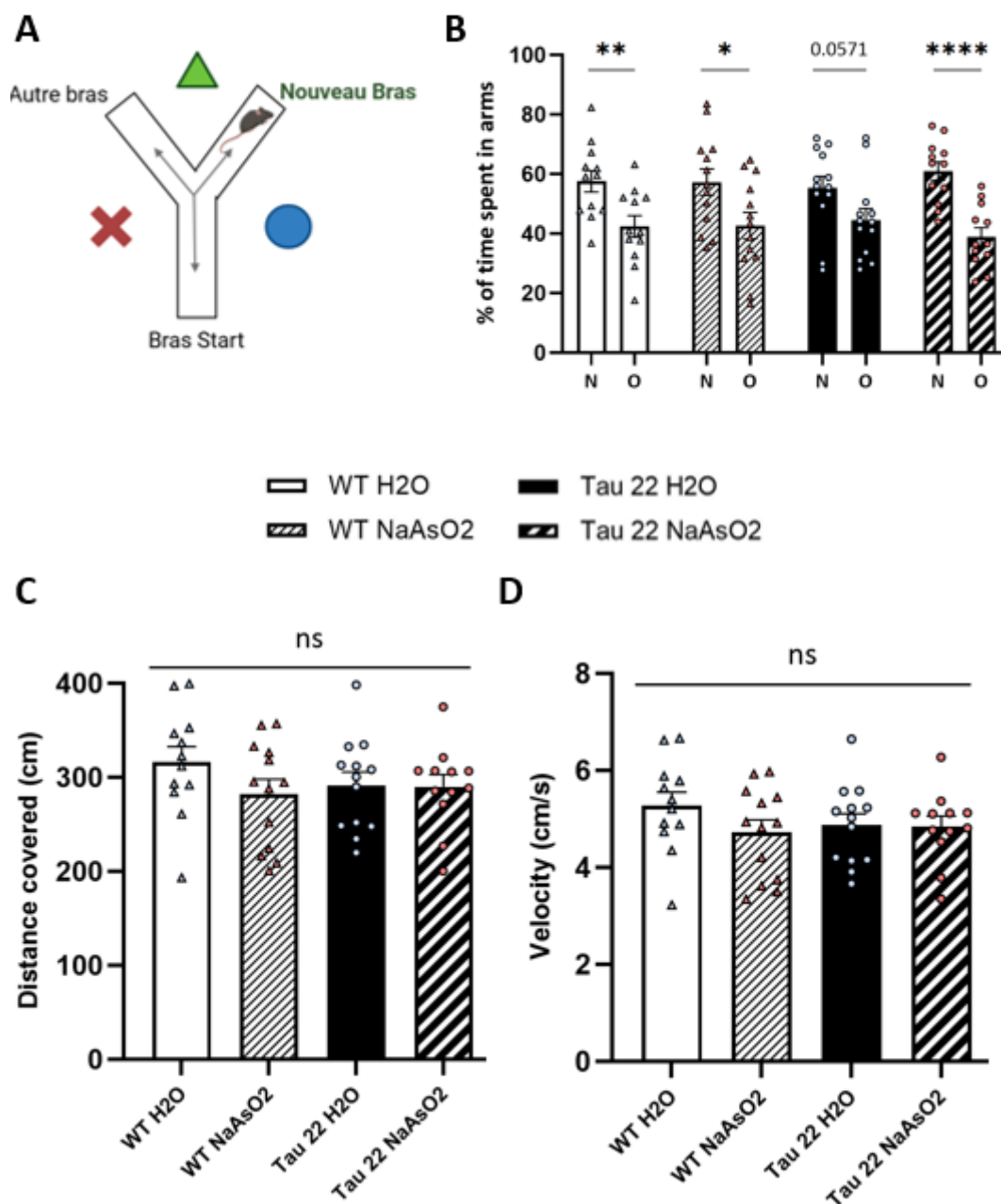


Figure 38 | Évaluation de la mémoire spatiale à court terme des souris dans le labyrinthe en Y après deux mois de traitement à l'Arsénite de sodium.

(A) Schéma illustrant le principe du test du Y-Maze, basé sur la reconnaissance du nouveau bras à l'aide d'indices visuels. (B) Les souris WT H2O, WT AS et Tau22 AS présentent une préférence significative pour le nouveau bras (N) par rapport à l'ancien (O). Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM (n = 12-13 par groupe) et représentent le temps passé dans chaque bras (en %) après 1 min dans le Y-Maze. Analyse statistique : t-test entre le nouveau bras et l'ancien pour chaque groupe. (*p = 0,0272 ; **p = 0,0077 ; ***p < 0,0001). (C, D) La distance parcourue (cm) et la vitesse moyenne (cm/s) ne diffèrent pas entre les groupes

durant les 5 minutes de test. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM (n = 12-13 par groupe). Analyse statistique : one-way ANOVA suivie d'un test de Tukey.

À l'âge de 4 mois, **après 2 mois de traitement à l'AS, les souris ne présentent aucune altération mnésique**. Comme les souris Tau22 ne sont pas encore atteintes cognitivement et qu'aucun effet de l'AS n'a été observé après 2 mois de traitement à l'AS, nous avons décidé de prolonger le traitement d'un mois supplémentaire, afin d'évaluer si une exposition plus longue peut précipiter l'apparition des déficits cognitifs chez les souris Tau22.

2.3 Évaluation comportementale des souris Thy-Tau 22, après 3 mois de traitement à l'arsénite de sodium

2.3.1 Analyse de l'anxiété et de l'activité locomotrice : test de l'Open Field

Comme pour la première évaluation comportementale, nous avons évalué la motricité et l'état anxieux des souris à l'aide du test de l'open Field, cette fois-ci après 3 mois de traitement à l'AS.

La distance parcourue et la vitesse moyenne sont comparables entre tous les groupes, indiquant l'absence de déficit locomoteur et la même exploration (**Figure 39, A et B**).

En revanche, une différence liée au génotype apparaît : les souris Tau22 eau passent significativement moins de temps à proximité des murs (**p = 0,0097) et davantage de temps au centre de l'arène (*p = 0,02) que les souris WT eau (**Figure 39, C et D**). Les souris Tau22 présentent alors un phénotype moins anxieux, appelé également « fearless », décrit pour cette lignée. Le traitement à l'AS n'a toutefois induit aucun effet supplémentaire, puisque les profils des groupes traités et non traités sont similaires au sein de chaque génotype, WT ou Tau22.

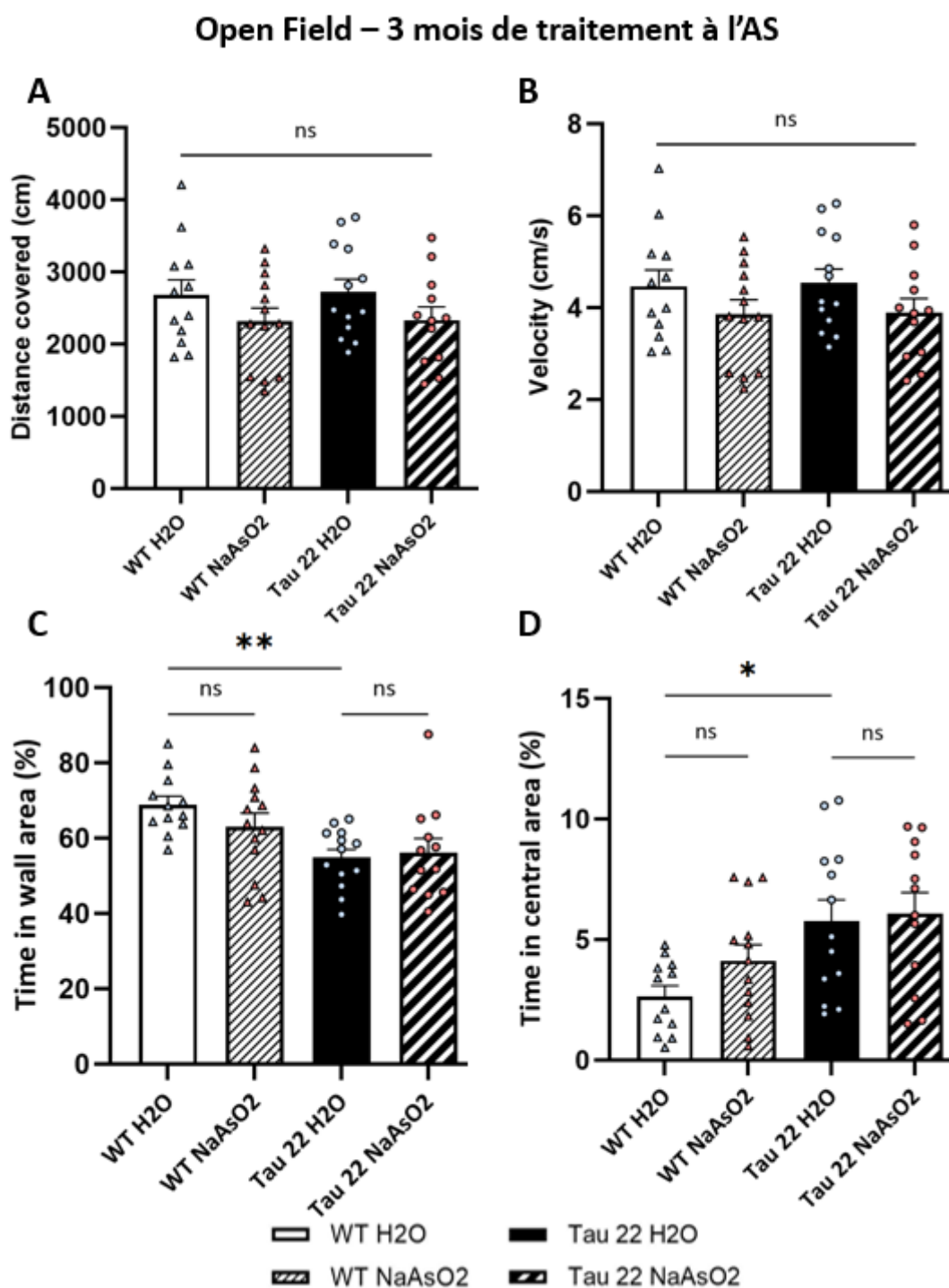


Figure 39 | Évaluation des performances des souris dans l'Open Field, après trois mois de traitement à l'Arsénite de sodium

(A) Distance totale parcourue dans l'arène (cm). (B) Vitesse moyenne (cm/s). (C) Pourcentage de temps passé à proximité des murs. Les souris Thy-Tau 22 eau passent significativement moins de temps au niveau des murs, comparées aux souris WT eau (** $p = 0,0097$). (D) Pourcentage de temps passé au centre de l'arène. Les souris Thy-Tau 22 eau passent significativement plus de temps au niveau du centre de l'arène, comparées aux souris WT eau (* $p = 0,0225$). Résultats exprimés sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 12-13$ par groupe). Analyse statistique : One-way ANOVA suivie d'un test de Tukey (ns = non significatif ; $p < 0,05$).

À l'âge de 5 mois, les Tau 22 présentent déjà une **altération de leur phénotype anxieux**, cohérente avec l'atteinte précoce de structures cérébrales telles que l'amygdale, connue pour les Tau 22, tandis que l'AS ne semble pas potentialiser cette atteinte.

2.3.2 Évaluation de la mémoire spatiale à court terme après 3 mois d'Arsénite de sodium : Y Maze

Nous avons également évalué la mémoire spatiale à court terme avec le test du Y Maze, après 3 mois de traitement à l'AS.

Comme attendu, les WT eau présentent une préférence significative pour le nouveau bras (N vs O : $*p = 0,0262$), confirmant un bon apprentissage et la validité du test (**Figure 40, B**). En revanche, les WT traitées à l'AS ne montrent pas de préférence pour le nouveau bras, révélant une altération de la mémoire spatiale à court terme.

Chez les souris Tau22 traitées à l'eau, et de manière surprenante, aucune préférence significative entre les bras n'a été observée, traduisant une atteinte mnésique déjà présente à l'âge de 5 mois alors que cette atteinte est classiquement observée à partir de l'âge de 6 mois (Schindowski et al., 2006; Van Der Jeugd et al., 2013). Les souris Tau22 traitées à l'AS montrent un phénotype similaire à celles traitées à l'eau. À noter qu'aucune différence de distance parcourue ou de vitesse n'a été détectée entre les groupes, excluant un effet moteur (**Figure 40, C et D**).

Y-Maze – 3 mois de traitement à l'AS

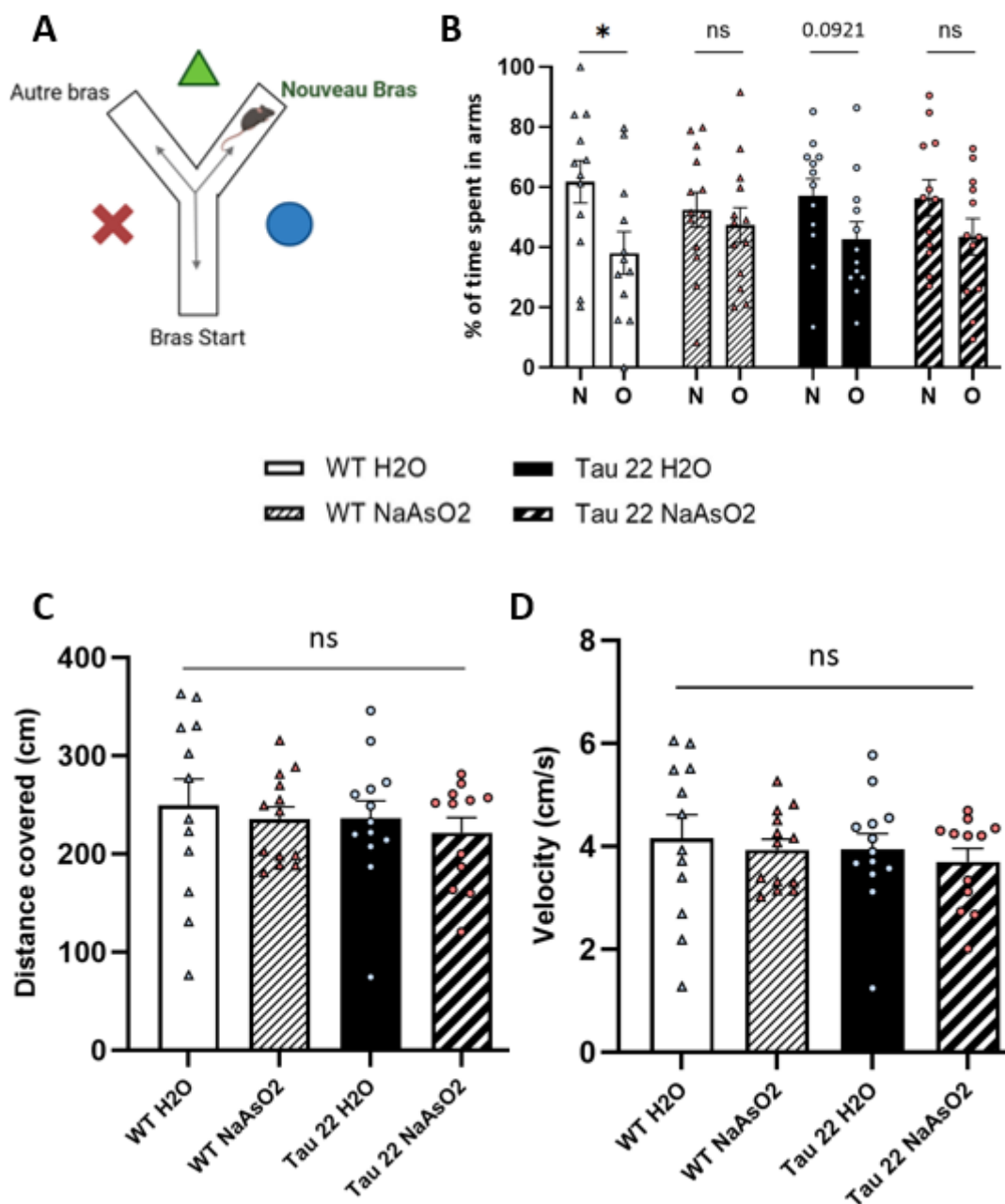


Figure 40 | Évaluation de la mémoire spatiale à court terme des souris dans le labyrinthe en Y après trois mois de traitement à l'Arsénite de Sodium

(A) Schéma illustrant le principe du test du Y-Maze, basé sur la reconnaissance du nouveau bras à l'aide d'indices visuels. (B) Les souris WT eau présentent une préférence significative pour le nouveau bras (N), comparé à l'ancien (O), indiquant une préservation de la mémoire spatiale. En revanche, les souris WT AS ne montrent aucune préférence pour un des deux bras, ce qui est compatible avec une altération des performances de reconnaissance. Les souris Thy-Tau 22 eau présentent une tendance à une exploration accrue du nouveau bras (N vs O, $p = 0,0921$), bien que cet effet n'atteigne pas le seuil de significativité statistique. Les souris Thy-Tau AS ne présentent aucune préférence pour un des deux bras. Les résultats sont exprimés

en moyenne $\pm$ SEM (n = 12-13 par groupe). Analyse statistique : t-test entre le nouveau et l'ancien bras pour chaque groupe. (*p = 0,0262 ; ns = non significatif ; p < 0,05). (C, D) La distance parcourue (cm) et la vitesse moyenne (cm/s) ne diffèrent pas entre les groupes. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM (n = 12-13 par groupe). Analyse statistique : one-way ANOVA suivie d'un test de Tukey.

En conclusion, à l'âge de 5 mois, les souris Thy-Tau 22 présentent déjà une altération de leur **mémoire spatiale**, ce qui empêche d'évaluer un éventuel effet aggravateur de l'AS. En revanche, un **effet de l'AS est observé chez les souris WT**, suggérant une influence directe du traitement, indépendante de la pathologie Tau.

2.4 Dosages de l'arsenic dans le plasma et le cortex des souris

Après le sacrifice des souris, nous avons vérifié l'efficacité du traitement en évaluant les concentrations d'arsenic dans le plasma et le cortex des souris traitées.

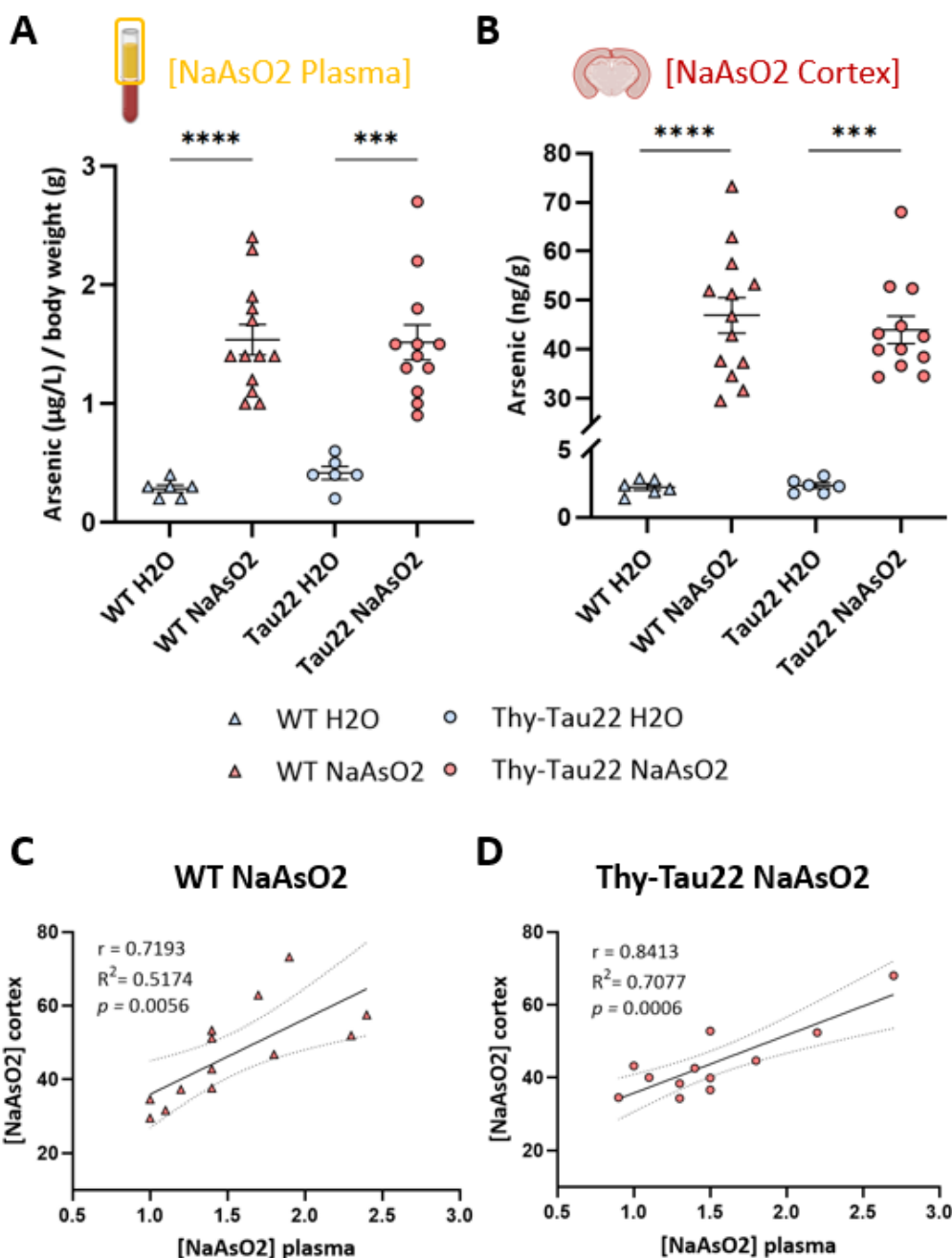


Figure 41 | Concentration d'arsenic dans le plasma et le cortex des souris après traitement à l'Arsénite de sodium.

(A) et (B) Dosage de l'arsenic dans le plasma (µg/L, normalisé au poids en g) et dans le cortex (ng/g). Une augmentation significative de la concentration d'Arsenic est observée pour les groupes traités à l'AS (WT AS et Thy-Tau 22 AS), à la fois dans le plasma et dans le cortex. Analyse statistique : Mann-Whitney test (WT H₂O vs WT AS ; Tau22 H₂O vs Tau 22 AS ; *** $p = 0,0001$; **** $p < 0,0001$). Résultats exprimés sous forme de moyenne $\pm$ SEM (WT H₂O et Thy-Tau 22 H₂O : $n = 6$; WT AS et Thy-Tau 22 AS : $n = 12/13$). (C, D) Corrélations entre les concentrations corticales et plasmatiques d'arsenic pour les souris WT AS et Thy-Tau 22 AS. Une corrélation significative est observée dans les deux cas (WT : $p = 0,0056$; Tau22 : $p = 0,0006$). Le coefficient de Pearson (r) et le R^2 sont indiqués sur chaque graphique.

Dans le plasma, les souris WT traitées à l'AS présentent une concentration moyenne de 1,5 µg/L, significativement plus élevée que celle des souris WT eau (0,28 µg/L) (**Figure 41, A**). De manière similaire, les Tau 22 AS présentent une concentration plasmatique de 1,5 µg/L contre 0,4 µg/L pour les Tau 22 eau. Dans le cortex, une augmentation significative est également observée : les souris WT AS atteignent en moyenne une concentration de 47 ng/g et les Tau 22 AS 44 ng/g, alors que les groupes contrôles restent faibles, avec 2,25 ng/g pour les WT eau et 2,35 ng/g pour les Tau 22 AS (**Figure 41, B**). Aucune différence n'a été détectée entre les deux génotypes, indiquant que l'arsenic est assimilé et distribué de façon similaire. Néanmoins, une hétérogénéité inter-individus est observée, indépendamment du génotype.

Enfin, l'analyse des corrélations entre les concentrations plasmatiques et corticales révèle une relation positive significative dans les deux génotypes (**Figure 41, C et D**). Le coefficient de Pearson (r) reflète la force et la direction de la relation linéaire entre deux variables, tandis que le coefficient de détermination (R^2) indique la proportion de la variance expliquée. Chez les souris WT, nous observons $r = 0,7193$ ($R^2 = 0,5174$), et chez les Tau22, $r = 0,8413$ ($R^2 = 0,7077$). Ces valeurs traduisent une corrélation forte chez les WT et très forte chez les Tau22, confirmant que plus la concentration plasmatique d'arsenic est élevée, plus celle mesurée dans le cortex l'est également.

Ces données confirment que **l'arsénite de sodium circule efficacement dans le sang**, traverse la barrière hémato-encéphalique (BHE) et s'accumule dans le tissu cérébral, indépendamment du génotype.

2.5 Étude biochimique de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la pathologie Tau

Après avoir confirmé que l'arsénite de sodium atteint efficacement le système nerveux central et s'accumule dans le cortex, l'étape suivante a consisté à déterminer si cette exposition chronique pouvait moduler la pathologie Tau. Pour cela, nous avons évalué différents marqueurs biochimiques et histologiques de la protéine Tau afin d'examiner l'impact du traitement sur les processus neurodégénératifs associés. Dans cette partie, nous étudierons des marqueurs biochimiques de la pathologie Tau.

2.5.1 Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la phosphorylation de Tau

Nous avons d'abord évalué la phosphorylation de Tau au niveau de la sérine 396, un épitope phosphorylé physiologiquement mais fréquemment associé à une hypersphosphorylation de Tau dans la MA et le modèle Thy-Tau 22.

En Western Blot, les souris Tau22 traitées à l'AS présentent une immuno-réactivité pour le pSer396 plus élevée par rapport aux Tau22 traitées à l'eau (**Figure 42, A**). Bien qu'une certaine hétérogénéité soit observée au sein des groupes, l'analyse quantitative confirme une augmentation significative de la phosphorylation au niveau du résidu Ser396 chez les Tau 22 exposées à l'AS ($p=0,0135$) (**Figure 42, B**).

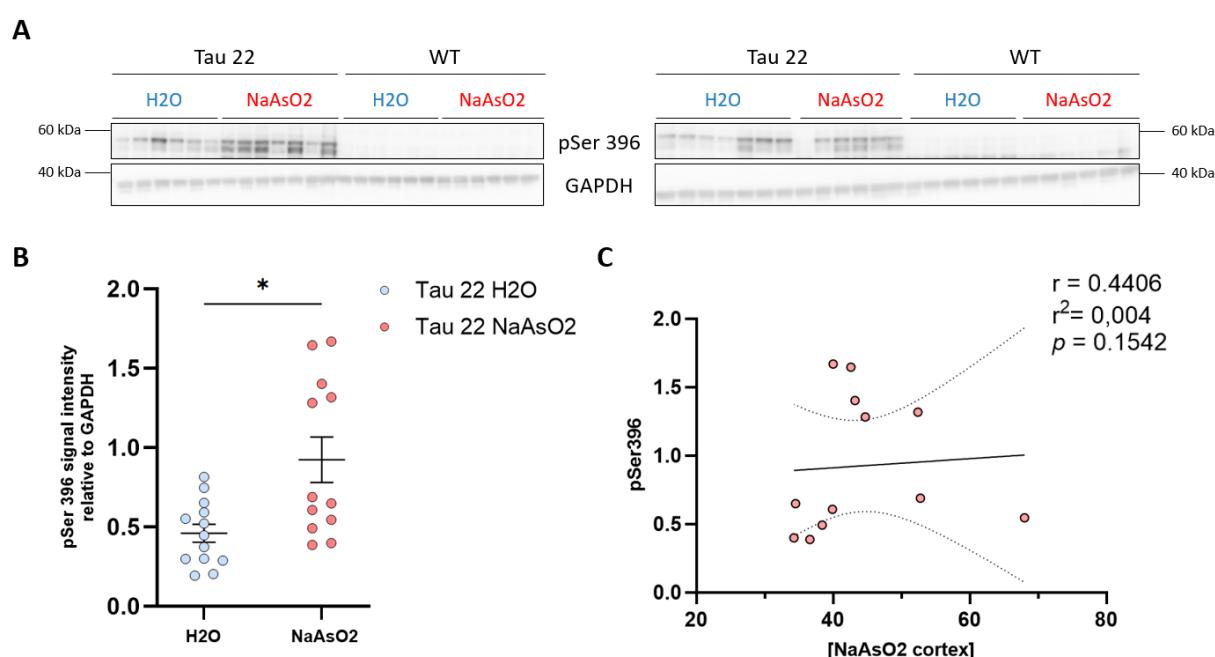


Figure 42 | Évaluation de la phosphorylation anormale de Tau dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.

(A) Western Blot représentatif de la phosphorylation pathologique de Tau sur l'épitope Ser396 dans les extraits hippocampiques des souris WT et Tau22 traitées ou non à l'AS. GAPDH : contrôle de charge. (B) Quantification du signal pSer396 rapportée à la GAPDH, montrant une augmentation significative de la pSer396 dans les groupes Tau22 AS par rapport aux souris Tau22 H2O (Mann-Whitney test ; $*p=0,0135$). Résultats exprimés sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 12-13$ par groupe). (C) Corrélation entre les niveaux de pSer396 et la concentration d'arsenic mesurée dans le cortex. Aucune corrélation significative n'a été observée ($p = 0,1542$). Le coefficient de Pearson (r) et le R^2 sont indiqués.

Afin d'examiner un éventuel lien entre le niveau de phosphorylation et la dose d'AS dans le cerveau, nous avons analysé la corrélation entre les niveaux de pSer396 et les concentrations corticales

en arsenic (**Figure 42, C**). Une tendance positive est observée avec un coefficient de Pearson de $r = 0,4406$, mais cette corrélation reste faible et non significative ($p = 0,1542$). Ces données ne permettent pas de conclure que l'augmentation de la phosphorylation de Tau au niveau de la sérine 396 est en lien avec la dose d'arsénite présente dans le cerveau.

2.5.2 Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la phosphorylation anormale de Tau

Nous avons ensuite étudié la phosphorylation anormale de Tau à l'aide de l'anticorps AT100, reconnaissant la phosphorylation au niveau des épitopes Ser212 et Thr214. Cet anticorps est conformationnel, il reconnaît ces épitopes uniquement dans un contexte pathologique.

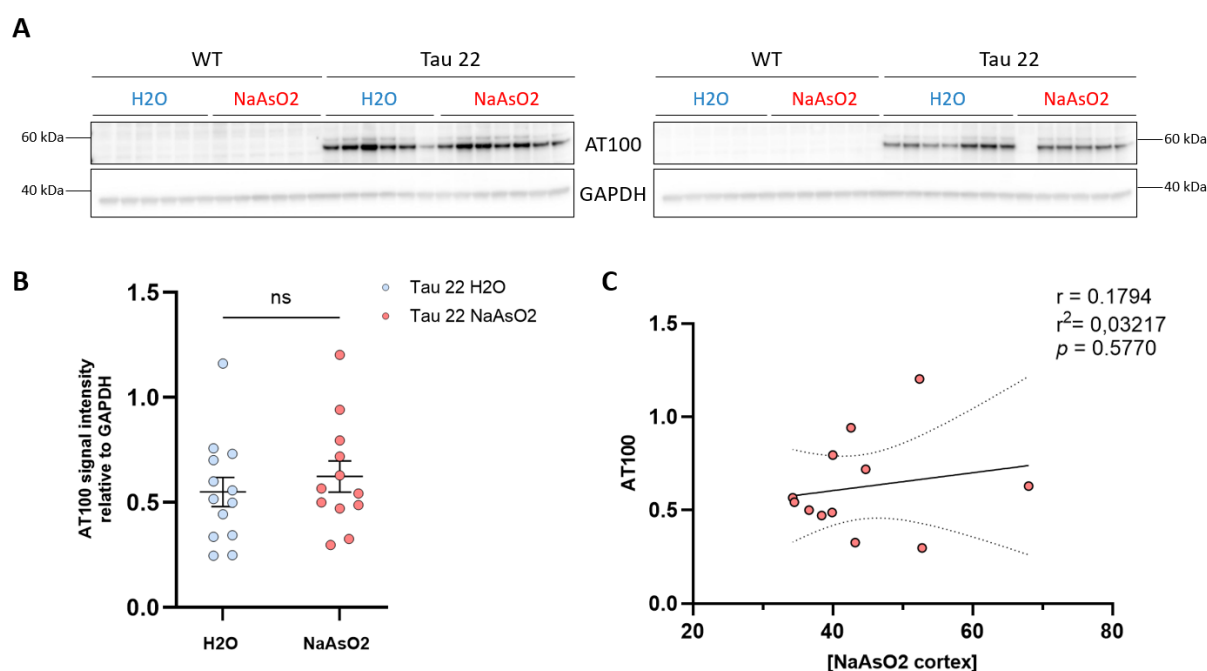


Figure 43 | Évaluation de la phosphorylation pathologique de Tau dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.

(A) Western Blot représentatif de la phosphorylation pathologique de Tau sur les épitopes Ser212/Thr214 (AT100) dans les extraits hippocampiques des souris WT et Tau22 traitées ou non à l'AS. GAPDH : contrôle de charge. (B) Quantification du signal AT100 rapporté à la GAPDH, ne montrant aucune différence significative entre les souris Tau22 AS et Tau22 H2O (Test de Student; ns = non significatif; $p = 0,0135$). Résultats exprimés sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 12-13$ par groupe). (C) Corrélation entre les niveaux d'AT100 et la concentration d'arsénite mesurée dans le cortex. Aucune corrélation significative n'a été observée ($p = 0,5770$). Le coefficient de Pearson (r) et le R^2 sont indiqués.

En Western Blot, aucune différence nette n'est observée pour l'immunoréactivité AT100, entre les souris Tau22 traitées à l'AS ou à l'eau (**Figure 43, A**). L'analyse quantitative confirme l'absence de différence significative entre les deux groupes (**Figure 43, B**). De plus, l'examen d'une éventuelle corrélation entre les niveaux d'AT100 et les concentrations corticales d'arsenic ne révèle pas de relation significative ($r = 0,1794$; $p = 0,5770$) (**Figure 43, C**).

Ces résultats suggèrent que, dans nos conditions expérimentales, **l'AS n'a pas d'effet détectable sur la phosphorylation anormale de Tau reconnue par l'anticorps AT100.**

2.5.3 Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur l'expression du variant AcMet11-Tau

Nous avons ensuite évalué spécifiquement la production du variant AcMet11-Tau à l'aide d'un test ELISA sandwich développé au sein du laboratoire avec l'anticorps 2H2D11 (Guedjda et al., 2025). Les concentrations mesurées ont été rapportées à celles de la protéine Tau totale pour chaque souris. Les résultats montrent une tendance à l'augmentation des niveaux d'AcMet11-Tau dans l'hippocampe des souris Tau22 traitées à l'AS (1088,3 pg/mL) par rapport aux Tau22 recevant de l'eau (858,3 pg/mL), mais cette différence n'est pas significative ($p = 0,0704$). Une forte variabilité intra-groupe est observée : par exemple, dans le groupe Tau 22 AS, une souris présente une concentration de 1857 pg/mL, tandis qu'une autre n'atteint que 555 pg/mL (**Figure 44, A**). De plus, l'analyse de la corrélation entre les niveaux d'AcMet11-Tau mesurés par ELISA et les concentrations corticales en arsenic révèle une relation positive modérée ($r = 0,3613$; $R^2 = 0,1305$), mais non significative ($p = 0,2485$) (**Figure 44, B**). Ces données suggèrent que l'AS pourrait influencer la génération d'AcMet11-Tau dans les cerveaux des souris Thy-Tau 22, sans toutefois permettre de conclure de manière définitive dans nos conditions expérimentales.

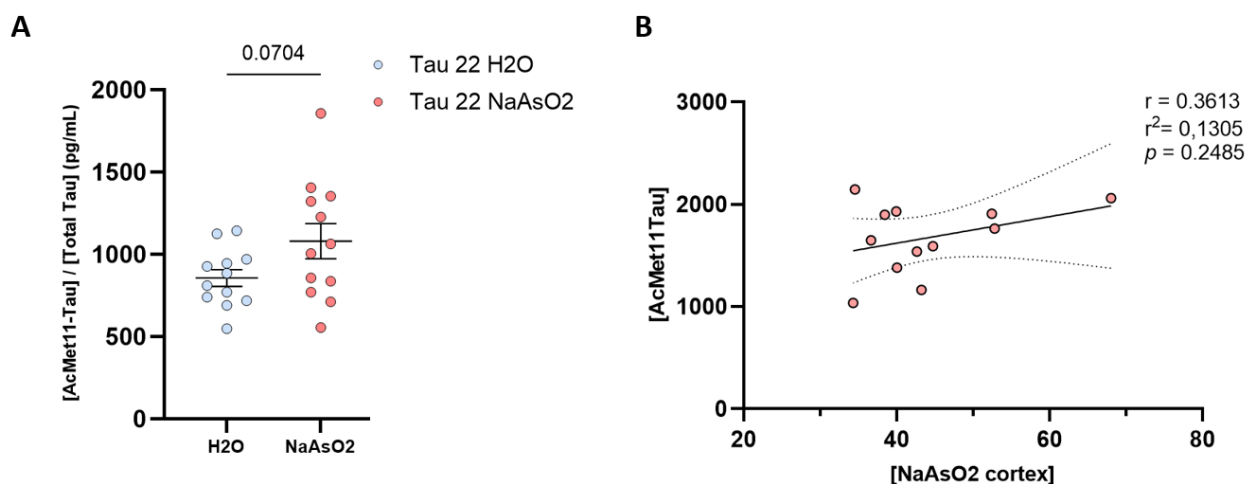


Figure 44 | Analyse par ELISA sandwich de la concentration d'AcMet11-Tau dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.

(A) Dosage par ELISA de la concentration d'AcMet11-Tau (anticorps 2H2D11), rapportée à la concentration en Tau totale (pg/mL). Les analyses révèlent que les souris Tau22 AS présentent une tendance à l'augmentation de la concentration en AcMet11-Tau (Test de Student; $p=0,0704$). Résultats exprimés sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 13$ par groupe). (B) Corrélation entre la concentration en AcMet11-Tau et la concentration corticale d'arsenic. Aucune corrélation significative n'est observée. ($p = 0,2485$). Le coefficient de Pearson (p) et le R^2 sont indiqués.

En conclusion, bien qu'une **tendance à l'augmentation de l'AcMet11-Tau** soit observée après traitement à l'AS, l'hétérogénéité importante entre animaux limite la portée de ce résultat. Une étude avec un effectif plus élevé serait nécessaire pour confirmer si l'arsenic module réellement la génération de ce variant pathologique de Tau.

2.5.4 Analyse de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la protéine Tau totale

Afin d'interpréter correctement les résultats précédents, il était essentiel de déterminer si les différences observées en termes de phosphorylation pathologique ou de génération d'AcMet11-Tau pouvaient être attribuées à une variation globale de l'expression de Tau ou de son ARNm.

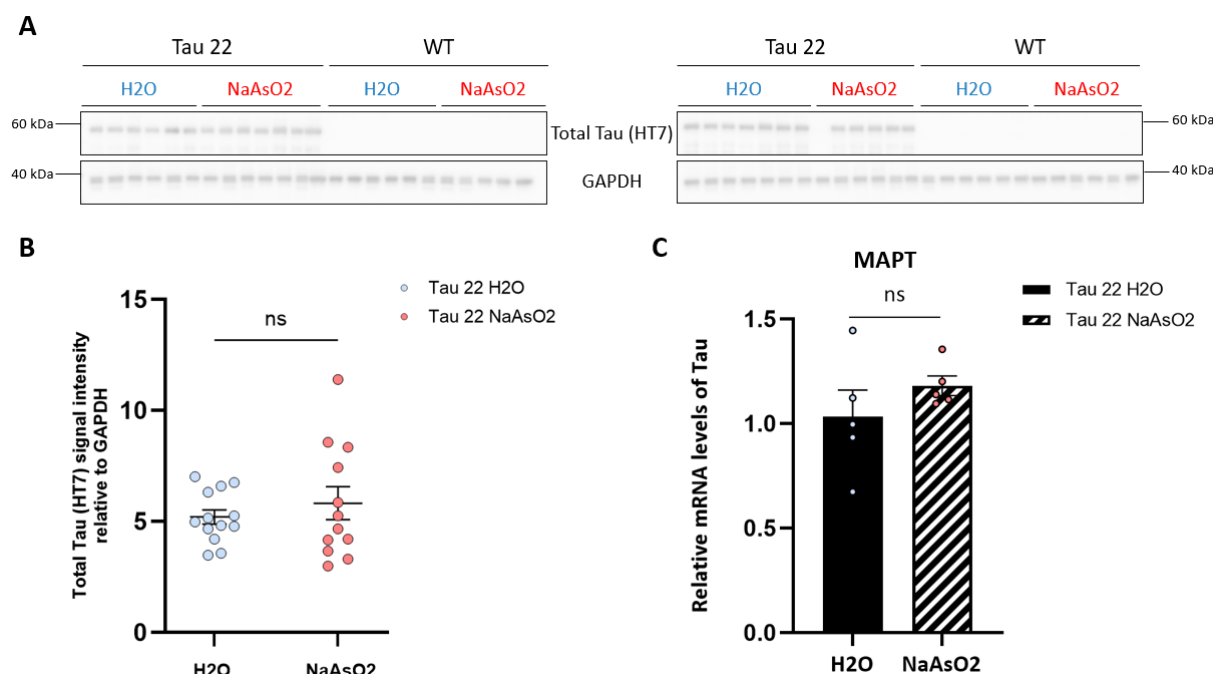


Figure 45 | Évaluation de l'expression de la protéine Tau totale dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'Arsénite de sodium.

(A) Western Blot représentatif de l'expression de la protéine Tau totale humaine (anticorps HT7) dans les extraits hippocampiques des souris WT et Tau22 traitées ou non à l'AS. GAPDH : contrôle de charge. (B) Quantification du signal HT7 rapporté à la GAPDH, ne montrant aucune différence d'expression de la Tau totale humaine entre les souris Tau22 H2O et AS. (Test de Student ; ns = non significatif ; $p = 0,4396$). Résultats exprimés sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 13$ par groupe). (C) Analyse par qPCR des niveaux relatifs d'expression de l'ARNm de Tau (MAPT) lors d'un traitement à l'AS. Les résultats sont exprimés en Fold Change et les valeurs correspondent à la moyenne $\pm$ SEM. Analyse statistique : Mann-Whitney test ; ns = non significatif ; $p = 0,4206$; $n = 5$ /groupe.

L'analyse par Western Blot de l'expression de la protéine Tau totale humaine n'a montré aucune différence significative ($p = 0,4396$) entre les souris traitées à l'eau et celles traitées à l'AS (**Figure 45, A et B**). Néanmoins, une certaine hétérogénéité intra-groupe est observée chez les souris Tau22 AS. En parallèle, l'expression du gène *MAPT* a été évaluée par qPCR (**Figure 45, C**). Les résultats montrent qu'il n'existe aucune différence significative d'expression de l'ARNm de Tau entre les groupes traités ou non à l'AS ($p = 0,4206$). L'AS ne semble pas avoir d'effet ni sur les niveaux de transcription de l'ARNm *MAPT* ni sur l'expression de la protéine Tau.

Ces analyses en Western Blot et qPCR indiquent que le traitement chronique à l'AS module sélectivement certains marqueurs de la pathologie Tau, en particulier la **phosphorylation sur la sérine 396** et, de manière plus variable, la **production d'AcMet11-Tau**. En revanche, ni les niveaux globaux

de Tau ni l'expression du gène *MAPT* ne sont affectés. Afin de confirmer et de préciser ces observations, notamment quant à leur distribution anatomique et cellulaire, nous avons ensuite étudié l'expression de ces marqueurs pathologiques par immunohistochimie dans l'hippocampe des souris.

2.6 Évaluation de l'effet de l'Arsénite de sodium sur la pathologie Tau, par immunohistochimie

Après avoir caractérisé les effets de l'AS sur la pathologie Tau par des approches biochimiques, nous avons complété ces analyses par des études immunohistochimiques. L'objectif était de visualiser directement dans l'hippocampe l'expression de différents marqueurs pathologiques de Tau (AcMet11-Tau, AT00 et AT8), et d'évaluer leur distribution anatomique et cellulaire en fonction du traitement.

2.6.1 Étude du variant AcMet11-Tau

L'analyse immunohistochimique de l'expression du variant AcMet11-Tau montre une tendance à l'augmentation du nombre de neurones marqués dans l'hippocampe des souris Tau22 traitées à l'AS ($p = 0,1061$), ou plus spécifiquement dans la région CA1, siège de la pathologie Tau ($p = 0,1925$) (**Figure 46, B**). Les images représentatives, issues de trois souris différentes, illustrent une forte hétérogénéité des profils de marquage, observée aussi bien au sein des Tau 22 eau que des Tau 22 AS (**Figure 46, A**). Le signal obtenu avec l'anticorps 2H2D11 correspond à un marquage somato-dendritique des neurones en dégénérescence et associé à des dépôts neurofibrillaires (DNF). Comme nous l'avons déjà observé dans les analyses comportementales et biochimiques, les souris Tau22 présentent à cet âge des caractéristiques pathologiques déjà bien établies, notamment l'expression du variant AcMet11-Tau, qui est un événement précoce de la pathologie Tau.

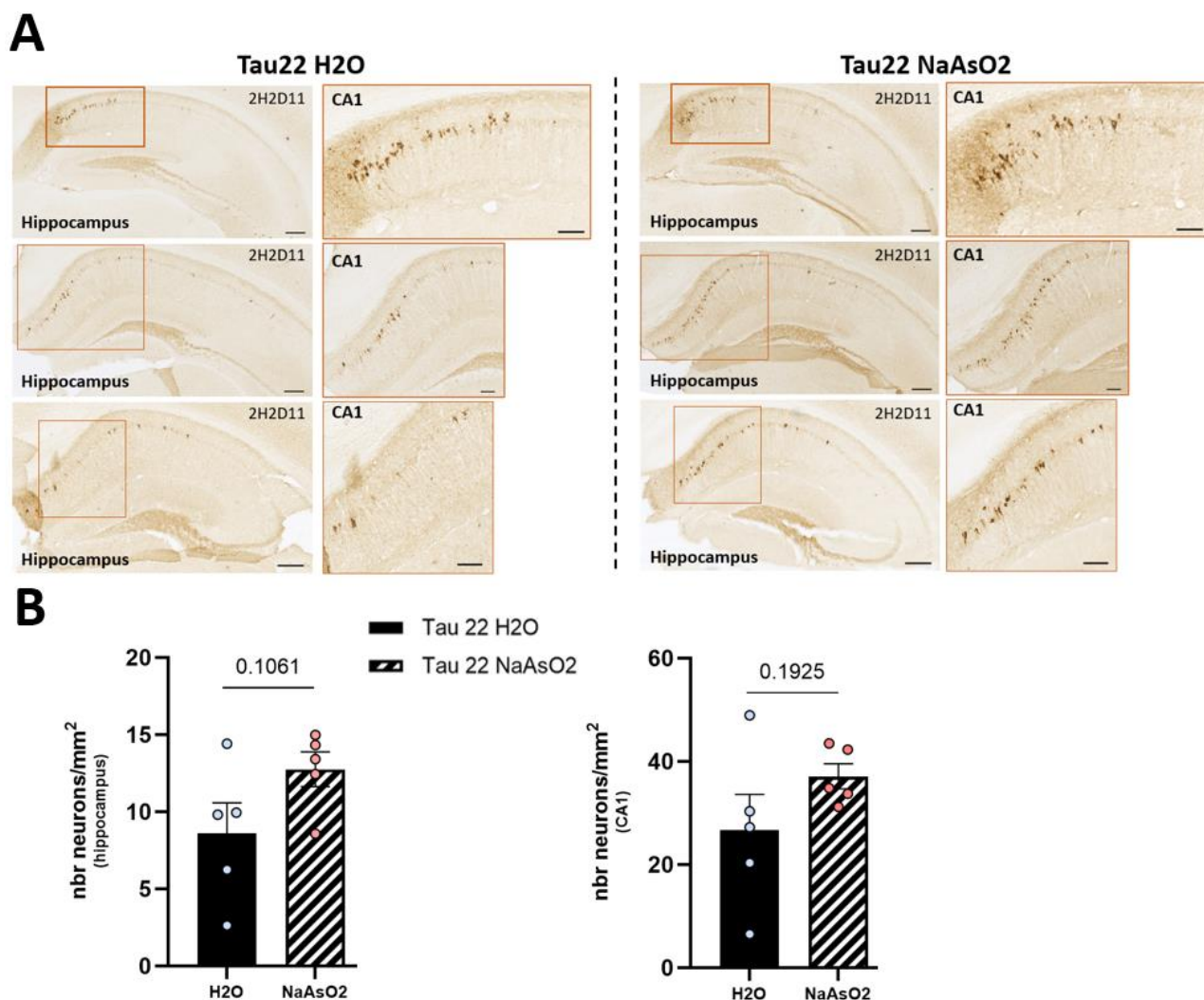


Figure 46 | Analyse par immunohistochimie de l'expression hippocampique de l'AcMet11-Tau dans les souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement de 3 mois à l'Arsénite de sodium.

(A) Images représentatives de l'expression de l'AcMet11-Tau (anticorps 2H2D11, marquage brun) dans des coupes de cerveau (hippocampe) de souris Thy-Tau 22 âgées de 5 mois traitées à l'eau (Tau22 H2O) ou à l'AS (Tau22 NaAsO2). Sont présentées les images issues de 3 souris différentes pour chaque condition (bregmas de haut en bas : -2,8 ; -2,7 ; -1,82). Barres d'échelles : 200 μ m (hippocampe) ; 100 μ m (zoom CA1). (B) Quantification du nombre de neurones marqués par surface (neurones/mm²) dans l'hippocampe total ou dans la CA1, réalisée à partir de 5 coupes couvrant les bregmas -1,7 à -3,88. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes (Mann-Whitney test : Hippocampe : $p = 0,1061$; CA1, $p = 0,1925$), $n = 5$ souris par groupe. CA1 : Corne d'Ammon.

Ces résultats suggèrent que l'AS pourrait contribuer à la production d'AcMet11-Tau, bien que l'hétérogénéité pathologique des Thy-Tau 22 à cet âge masque cet effet. Nous avons ensuite analysé l'expression des marqueurs AT8 et AT100 en IHC.

2.6.2 Évaluation de la phosphorylation pathologique de Tau

L'anticorps AT8 reconnaît deux sites de phosphorylation de Tau : la sérine 202 et la thréonine 205, qui peuvent être phosphorylés dans des conditions physiologiques mais qui deviennent hyperphosphorylés dans les neurones en DNF. Ainsi, AT8 est largement utilisé comme anticorps de référence de la pathologie Tau, car il détecte à la fois la protéine Tau hyperphosphorylée et agrégée.

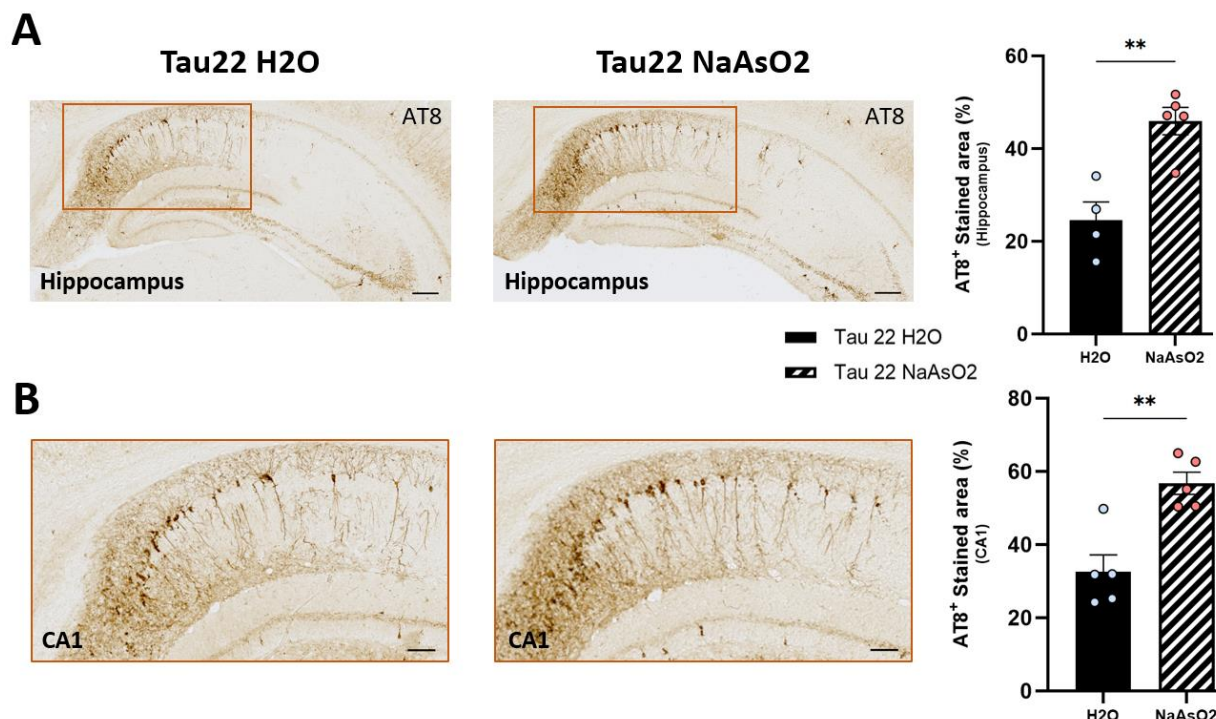


Figure 47 | Analyse par immunohistochimie de l'effet d'un traitement de 3 mois à l'Arsénite de sodium sur la pathologie Tau dans les souris Thy-Tau 22.

(A) Images représentatives de la phosphorylation pathologique de Tau au niveau des épitopes Ser202/Thr205 (anticorps AT8, marquage brun), dans l'hippocampe de souris Thy-Tau 22 âgées de 5 mois, traitées à l'eau (Tau22 H2O) ou à l'AS (Tau22 NaAsO2). Sont présentées les images issues du bregma -2.7. Barre d'échelle : 200 μ m. À droite, quantification de la surface hippocampique AT8 positive (%), montrant une augmentation significative chez les souris (Test de Student : $**p = 0,0029$). (B) Images représentatives de la région CA1 des mêmes souris. Barre d'échelle : 100 μ m. À droite, quantification du marquage AT8 (% de surface marquée), également augmentée dans le groupe Tau22 AS (Test de Student : $**p = 0,0023$) ; $n = 4-5$ souris par groupe.

Nos analyses immunohistochimiques montrent une augmentation significative de la surface marquée chez les souris Tau 22 traitées à l'AS, aussi bien dans l'hippocampe total ($**p = 0,0029$) (**Figure 47, A**) que dans la région CA1 spécifiquement ($**p = 0,0023$) (**Figure 47, B**). Les images représentatives, illustrées pour un bregma équivalent pour chaque groupe, mettent clairement en

évidence cette différence. Le signal AT8 correspond à un marquage somato-dendritique caractéristique des neurones en DNF.

Ces résultats indiquent que l'AS favorise l'hyperphosphorylation de Tau sur ces sites Ser202/Thr205, renforçant l'idée d'une aggravation de la pathologie Tau dans ce modèle.

2.6.3 Évaluation de la phosphorylation anormale de Tau

L'anticorps AT100 reconnaît une conformation pathologique de Tau, au niveau des épitopes Ser212/Thr214. Il est classiquement utilisé pour mettre en évidence un marquage dense des corps cellulaires des neurones en DNF.

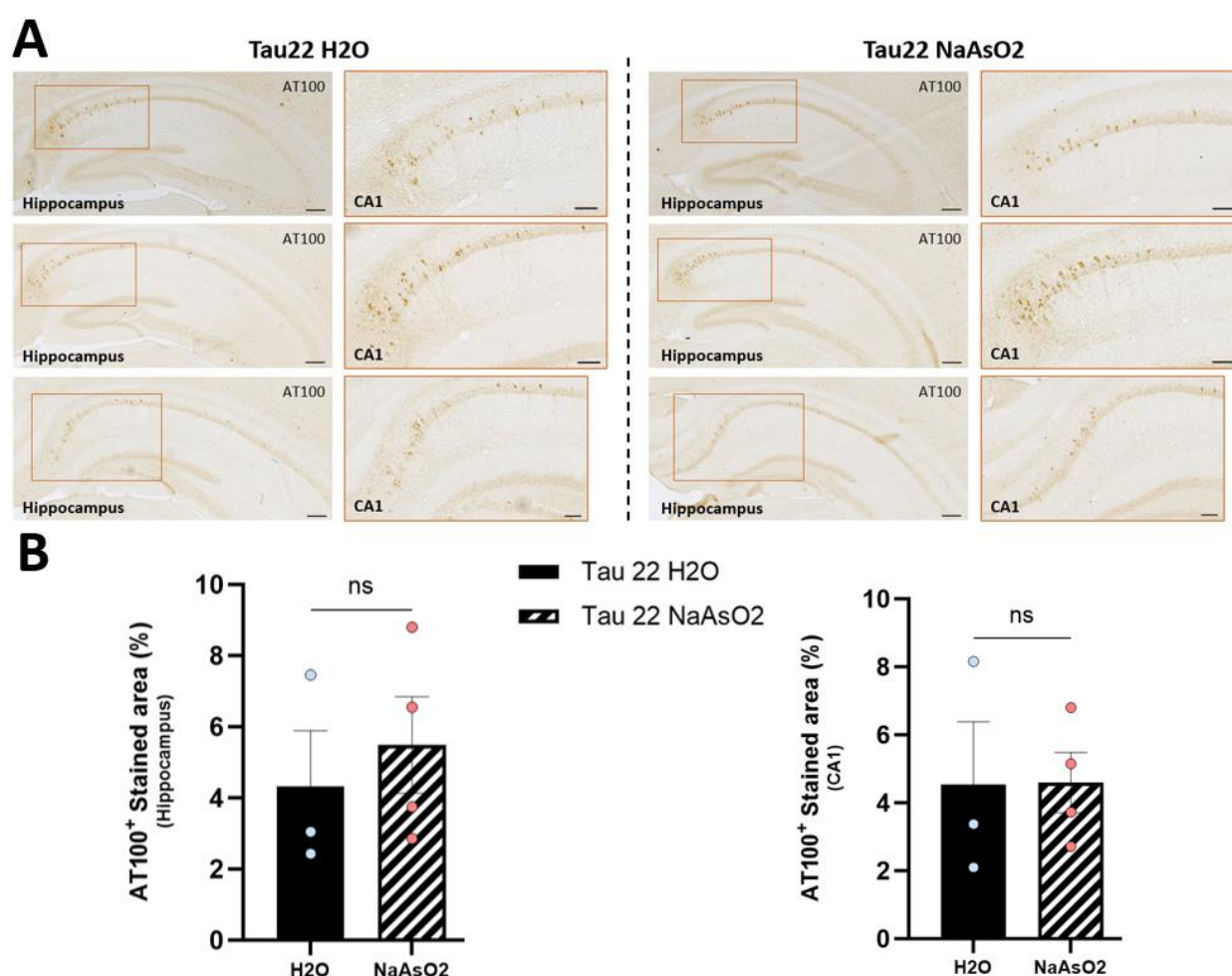


Figure 48 | Analyse par immunohistochimie de l'effet d'un traitement de 3 mois à l'Arsénite de sodium sur la phosphorylation anormale de Tau dans les souris Thy-Tau 22.

(A) Images représentatives de la phosphorylation anormale de Tau au niveau des épitopes Ser212/Thr214 (AT100, marquage brun) dans l'hippocampe de souris Thy-Tau 22 âgées de 5 mois, traitées à l'eau (Tau22 H2O) ou à l'AS (Tau22 NaAsO2). Sont présentées les images issues de 3 souris différentes pour chaque condition (bregmas de haut en bas : -2,8 ; -2,8 et -2,7). Barres d'échelle : 200 μ m (hippocampe) ; 100 μ m (CA1). (B) Quantification de la surface

hippocampique totale ou CA1 AT100 positives (%), réalisée à partir de 4 coupes couvrant les bregmas -1,58 à -3,64. Aucune différence significative n'est observée entre les deux groupes. (Mann-Whitney test : Hippocampe, $p = 0,6286$; CA1 : $p = 0,8571$; $n = 3-4$ souris par groupe).

Dans nos analyses, aucune différence ni tendance n'est observée entre les groupes Tau22 eau et Tau 22 AS, que ce soit à l'échelle de l'hippocampe entier (ns : $p = 0,6286$) ou de la région CA1 spécifiquement (ns : $p = 0,8571$) (**Figure 48, B**). Les images représentatives, illustrant trois souris de chaque groupe à des bregmas équivalents, reflètent bien cette absence de différence entre les deux groupes (**Figure 48, A**). Elles mettent également en évidence une certaine hétérogénéité intra-groupe, certaines souris présentant un marquage plus ou moins intense, indépendamment du traitement reçu.

Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus en WB, confirmant l'hétérogénéité interindividuelle, ne permettant pas de conclure de manière affirmative sur l'effet de l'AS sur la phosphorylation anormale de Tau.

2.7 Le traitement à l'arsénite de sodium peut-il activer la réponse intégrée au stress dans le cerveau des souris Thy-Tau 22 ?

Dans les modèles cellulaires, nous avons montré que la génération d'AcMet11-Tau était dépendante de l'activation de l'ISR induite par l'Arsénite de sodium. Ce lien suggère que l'ISR pourrait être un mécanisme clé reliant le stress cellulaire à la production d'AcMet11-Tau et, plus largement, à l'aggravation de la pathologie Tau. Nous avons alors analysé l'activation de l'ISR dans l'hippocampe de souris traitées chroniquement à l'AS, en utilisant ATF4 comme marqueur et en évaluant son association avec l'expression d'AcMet11-Tau.

Nous avons choisi de réaliser une analyse par immunohistochimie en fluorescence, qui permet une analyse au niveau cellulaire. Nous avons réalisé des co-marquages entre AcMet11-Tau et ATF4, comme dans nos modèles cellulaires.

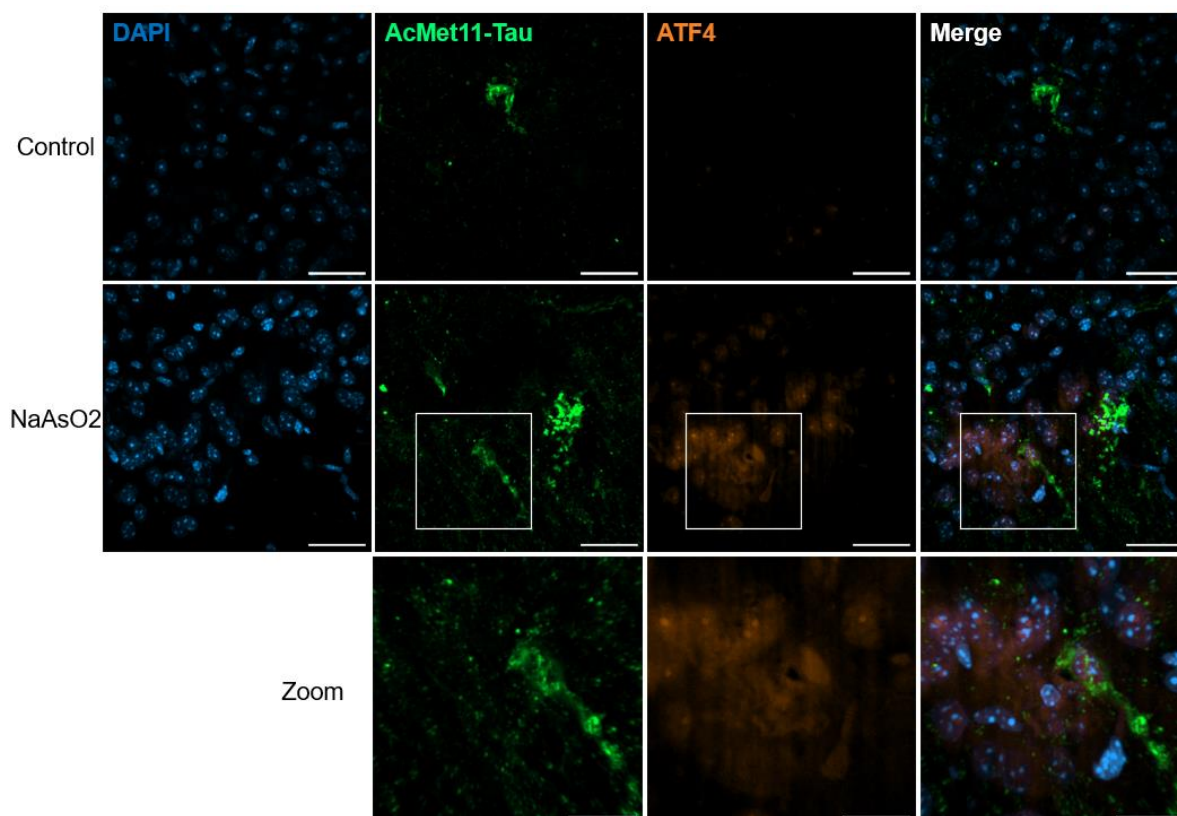


Figure 49 | La réponse intégrée au stress est activée dans le cerveau des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'arsénite de sodium.

Images d'immunofluorescence représentatives de l'hippocampe (zone CA1) de souris Thy-Tau 22 traitées à l'eau (contrôle) ou à l'AS (NaAsO₂). L'AcMet11-Tau est détecté par l'anticorps 2H2D11 (signal vert) et l'activation de l'ISR est visualisée par l'expression d'ATF4 (signal orange). Chez les souris contrôles, seul le signal AcMet11-Tau est détecté, tandis que chez les souris traitées à l'AS, une induction claire d'ATF4 est observée. DAPI : marque les noyaux. Merge : superposition des images obtenues avec le DAPI, le 2H2D11 et ATF4. Ces images sont des MIP, générées à partir de z-stacks, avec le logiciel IMARIS. Elles ont été acquises avec un microscope Zeiss Spinning Disk, objectif x63 oil. Le temps d'acquisition, l'exposition et les contrastes sont identiques pour chaque image et sont rapportés au contrôle négatif (sans anticorps primaire). Barre d'échelle : 10 µm et zoom = 20 µm.

Dans les souris Tau22 contrôles (eau), nous observons uniquement une expression d'AcMet11-Tau, sans marquage détectable d'ATF4. En revanche, dans les souris traitées à l'AS, les deux signaux apparaissent conjointement dans les mêmes cellules (**Figure 49**). Comme pour l'immunohistochimie visible 2H2D11, le marquage AcMet11-Tau présente un profil somato-dendritique caractéristique des DNF, avec une localisation bien délimitée. À l'inverse, le marquage ATF4 apparaît plus diffus, comme on a pu l'observer précédemment dans nos modèles cellulaires. Ces observations sont particulièrement visibles dans la région CA1, connue pour être la zone hippocampique la plus atteinte

dans ce modèle. En revanche, dans les autres sous-régions comme la CA2 ou la CA3, nous n'avons pas détecté de co-expression marquée.

En conclusion, ces résultats confirment *in vivo* que le **traitement à l'Arsénite de sodium a activé une réponse intégrée au stress dans l'hippocampe des souris traitées**, localisée principalement au niveau de la CA1, siège où l'AcMet11-Tau et la pathologie Tau sont les plus marqués.

2.8 L'injection d'extraits de cerveaux de patients Alzheimer dans le cerveau de souris transgéniques peut-elle activer la réponse intégrée au stress ?

Plusieurs études ont montré la présence de marqueurs de la réponse intégrée au stress dans les cerveaux de patients atteints de la MA (R. C. C. Chang et al., s. d.; Moon et al., 2018), suggérant qu'elle est également activée au cours du processus pathologique. Afin de faire le lien avec le contexte physiopathologique de la MA, nous avons donc voulu déterminer l'effet de l'injection intracérébrale d'extraits de cerveaux de patients Alzheimer sur l'ISR et la production d'AcMet11-Tau.

Pour cela, des souris Thy-Tau 30, modèle transgénique de la pathologie Tau (Schindowski et al., 2006; Leroy, Bretteville, et al., 2007), ont été injectées avec des extraits cérébraux provenant de patients Alzheimer (AD) ou de sujets témoins (CTRL) dans l'hippocampe, par injection stéréotaxique et analysées un mois après l'injection. Des résultats préliminaires sur ces coupes avaient montré par immunohistochimie une augmentation marquée du nombre de neurones positifs pour AcMet11-Tau dans l'hippocampe des souris injectées avec les extraits AD, comparés aux souris ayant reçu les extraits CTRL, tandis qu'aucune immunoréactivité n'était observée chez les souris sauvages. Ces résultats suggèrent que des composants présents dans les extraits de cerveaux AD pourraient potentialiser la production d'AcMet11-Tau. Afin d'explorer le lien entre cette accumulation d'AcMet11-Tau et l'activation de l'ISR, des analyses en immunofluorescence en co-marquage avec ATF4 ont été réalisées (**Figure 50**). Un signal ATF4 est détecté uniquement dans les hippocampes de souris Thy-Tau 30 injectées avec les extraits AD, au niveau de la CA1, proche du site d'injection. Aucune activation de l'ISR n'est détectée chez les souris ayant reçu les extraits CTRL. Il est difficile de conclure à une colocalisation d'ATF4 et d'AcMet11-Tau dans les mêmes cellules, puisque le signal d'ATF4 est très diffus, mais les deux signaux sont retrouvés au niveau de la même région. Ces mêmes injections ont été réalisées en parallèle dans des cerveaux de souris sauvages (WT), avec les extraits CTRL et AD. Aucune détection d'ATF4 ou d'AcMet11-Tau n'a été montrée (résultats non montrés).

Ainsi, la détection d'ATF4 et l'augmentation du variant AcMet11-Tau uniquement dans les souris injectées avec des extraits de patients atteints de la MA suggèrent que ces extraits contiennent des facteurs capables de déclencher une réponse intégrée au stress et de potentialiser la production d'AcMet11-Tau.

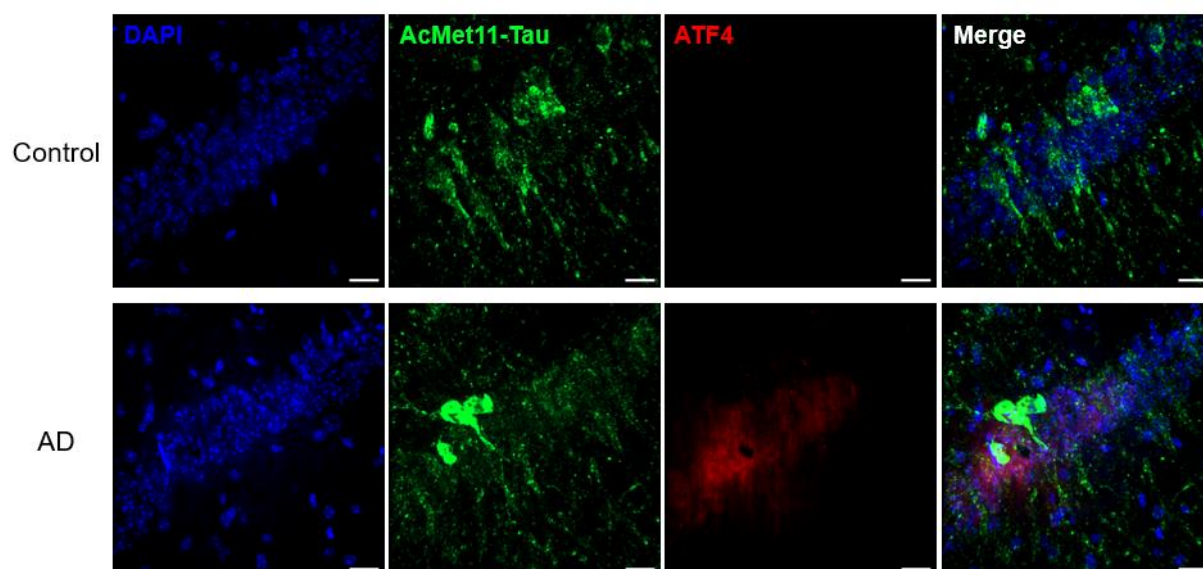


Figure 50 | La réponse intégrée au stress est activée dans les cerveaux des souris Thy-30 injectées avec des extraits de patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Images d'immunofluorescence représentatives de l'hippocampe (zone CA1) de souris Thy-Tau 30 injectées avec des extraits de patients sains (contrôle) ou atteints de la MA (AD). L'AcMet11-Tau est détecté par l'anticorps 2H2D11 (signal vert) et l'activation de l'ISR est visualisée par l'expression d'ATF4 (signal rouge). Chez les souris contrôles, seul le signal AcMet11-Tau est détecté, tandis que chez les souris traitées à l'AS, une induction claire d'ATF4 est observée. DAPI : marque les noyaux. Merge : superposition des images obtenues avec le DAPI, le 2H2D11 et ATF4. L'acquisition a été réalisée avec un microscope Zeiss Spinning Disk, objectif x63 oil. Les images présentées sont des MIP, générées à partir de z-stacks et analysées avec le logiciel IMARIS. Le temps d'acquisition, l'exposition et les contrastes sont identiques pour chaque image et rapportés au contrôle négatif (sans anticorps primaire). Barre d'échelle : 20 μ m.

Discussion du 2^{ème} chapitre : étude *in vivo* de l'effet d'un traitement à l'Arsénite de sodium sur la génération du variant AcMet11-Tau et le développement de la pathologie Tau

Cette étude *in vivo* visait à évaluer l'effet d'un traitement chronique à l'arsénite de sodium sur la production du variant AcMet11-Tau et sur la potentialisation de la pathologie Tau, associée au déclin cognitif. L'objectif principal était de déterminer si l'exposition chronique à l'AS pouvait accélérer l'apparition de la pathologie Tau et des troubles cognitifs, mais aussi augmenter la production du variant pathologique AcMet11-Tau, dans un modèle murin où ce variant est détecté à un stade précoce et sa quantité augmente avec la progression de la pathologie (Guedjda et al., 2025). Au-delà de ces objectifs, ce travail ouvre plusieurs pistes de recherche en lien avec les mécanismes moléculaires sous-jacents à la formation d'AcMet11-Tau *in vivo*, en particulier dans le cadre de la réponse intégrée au stress.

Étude des fonctions cognitives des souris Thy-Tau 22 à la suite d'un traitement à l'arsénite de sodium

Des tests afin d'évaluer la fonction cognitive des souris Thy-Tau 22 traitées ou non à l'AS ont été réalisés 2 mois ou 3 mois après le début du traitement. Nous avons évalué la mémoire spatiale à court terme avec le test du labyrinthe en Y (Y Maze). Nos résultats ne permettent pas de conclure à un effet aggravateur de l'arsénite de sodium sur les fonctions cognitives des souris transgéniques Thy-Tau 22.

En effet, dans notre étude, à l'âge de 4 mois, soit après 2 mois de traitement, nous n'avons observé aucune différence de déficits de la mémoire spatiale, que ce soit pour les souris Thy-Tau 22 comparées aux WT ou les souris traitées à l'AS. Nous avons donc choisi de continuer le traitement pour une durée supplémentaire de 1 mois. Or, à l'âge de 5 mois, soit après 3 mois d'AS, les souris Thy-Tau 22, indépendamment du traitement, présentent déjà des altérations de la mémoire spatiale à l'âge de 5 mois dans le Y Maze, ce qui suggère une apparition plus précoce des troubles. Pourtant, dans la littérature, et sur la base des nombreuses expériences menées au laboratoire, les premiers déficits mnésiques sont généralement rapportés à partir de 6-7 mois dans ce modèle (Schindowski et al., 2006; Troquier et al., 2012; Van Der Jeugd et al., 2013). Plusieurs facteurs pourraient expliquer cette

différence, notamment des conditions d'hébergement distinctes de celles habituellement utilisées, qui auraient pu influencer l'âge d'apparition de la pathologie.

En effet, les souris ont été hébergées dès le sevrage, dans l'annexe de l'animalerie, située au laboratoire, et non dans l'animalerie conventionnelle EOPS. L'environnement d'hébergement constitue en effet un facteur expérimental majeur dans les études comportementales sur les modèles murins. L'enrichissement de l'environnement désigne l'exposition des animaux à un milieu complexe sur les plans sensoriels, moteurs et sociaux, par opposition à un environnement standardisé et appauvri. Chez la souris, cet enrichissement stimule la neurogenèse, augmente la plasticité synaptique et peut atténuer les effets délétères de diverses pathologies neurodégénératives (Nithianantharajah & Hannan, 2006). Dans plusieurs modèles transgéniques de la maladie d'Alzheimer, notamment les souris 3xTg-AD, APP/PS1 ou encore rTg4510, l'enrichissement de l'environnement a été associé à une amélioration des performances mnésiques, à une modulation de la phosphorylation de Tau et à une réduction des déficits synaptiques (Hannan, 2014; Lazarov et al., 2005). Cependant, l'effet de l'environnement semble fortement dépendre du contexte expérimental, notamment de l'intensité et du moment de l'enrichissement, de la charge pathologique initiale et du modèle utilisé (Liew et al., 2022). Bien que notre protocole n'ait pas impliqué un enrichissement volontaire, le changement de bâtiment, dès l'âge de 2 mois, ayant impliqué un environnement nouveau (bruits différents, plus calme car moins de passages par le personnel de l'animalerie), pourrait avoir influencé la survenue des déficits mnésiques. Des études antérieures ont montré que les modèles de pathologie Tau sont sensibles à de telles modifications (Van der Jeugd et al., 2012). Cette installation précoce des troubles mnésiques ne nous a donc pas permis de détecter un effet potentialisateur de l'AS sur le développement des déficits cognitifs.

De plus, dans cette étude, nous avons utilisé deux tests comportementaux pour évaluer les fonctions émotionnelles et motrices, et les fonctions cognitives des souris Thy-Tau 22 traitées ou non à l'arsénite de sodium : le test de l'Open Field, permettant de mesurer l'activité locomotrice et l'anxiété, et le Y Maze, permettant d'évaluer la mémoire spatiale à court terme. Ces tests présentent l'avantage d'être rapides à mettre en œuvre et d'être peu invasifs. Toutefois, ces paradigmes comportementaux ne permettent d'interroger qu'un sous-ensemble limité de fonctions mnésiques. Par exemple, le Y Maze évalue essentiellement la mémoire spatiale à court terme, appelée mémoire de travail, mais reste peu sensible aux déficits subtils ou progressifs, notamment ceux affectant la mémoire à long terme ou l'apprentissage spatial. L'ajout de tests supplémentaires plus sensibles et faisant travailler d'autres types de mémoire aurait peut-être permis d'observer des différences plus subtiles entre les Thy-Tau 22 eau et les Thy-Tau AS. Par exemple, l'ajout d'épreuves plus sensibles telles que le Morris Water Maze ou le labyrinthe de Barnes aurait permis d'évaluer la mémoire spatiale à

long terme ainsi que l'apprentissage spatial (Sharma et al., 2010), typiquement altérés dans les modèles de tauopathies ou de MA (Polydoro et al., 2009; Vagnozzi et al., 2017; Samaey et al., 2019). De même, des tests tels que le Novel Object Recognition (NOR) pourraient être mis en place afin de détecter des déficits précoces de mémoire épisodique ou de reconnaissance, en particulier dans des contextes où les troubles mnésiques sont discrets ou variables entre individus (Lissner et al., 2021). L'intégration d'une batterie comportementale plus étendue et multidimensionnelle aurait peut-être permis de mieux caractériser les effets de l'arsénite de sodium sur la cognition.

En revanche, chez les souris WT, une exposition chronique de 3 mois à l'arsénite de sodium a induit des déficits cognitifs, détectés par le test du Y Maze. Cet effet sur les WT serait alors indépendant de la pathologie Tau, puisque les WT n'expriment pas la protéine Tau humaine mutée. Cet effet pourrait être lié à des mécanismes pathophysiologiques induits par l'arsénite de sodium, tels que le stress oxydant, l'inflammation ou encore une altération de la plasticité synaptique.

L'arsénite de sodium est connu pour être un agent pro-oxydant puissant capable d'induire un stress oxydant cérébral significatif, en augmentant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) tout en inhibant les systèmes antioxydants endogènes tels que le glutathion réduit (GSH), la superoxyde dismutase (SOD) ou la glutathion peroxydase (GPx) (B et al., 2013; Xiong et al., 2021). Cette dérégulation redox entraîne des dommages moléculaires étendus, notamment la peroxydation lipidique (MDA, 4-HNE), la carbonylation des protéines et l'oxydation de l'ADN (8-oxo-2'-désoxyguanosine) (Harper et al., 2014). En réponse à ces agressions, les cellules gliales, en particulier les microglies et astrocytes, entrent dans un état activé, comme l'indiquent l'augmentation de l'expression de marqueurs tels que Iba1 (Ionized calcium-binding adaptor molecule 1), GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein), ou CD68 et la production accrue de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF- α , IL-6) (G. Chen et al., 2016; Piyushbhai et al., 2023). Des immunohistochimies pour tester ces marqueurs de l'activation gliale (GFAP et Iba1) pourraient être réalisées, à la fois sur les coupes de cerveau des souris WT et Thy-Tau 22. J'ai réalisé une immunohistochimie visible de GFAP sur les coupes des WT et Thy-Tau 22, mais les quantifications de la surface marquée sont encore en cours. Quelques qPCR ont également été réalisées afin de tester des marqueurs de la neuroinflammation tels que CD68, GFAP et clec7a, mais les résultats n'ont pas pu être exploités.

Cette neuroinflammation persistante est susceptible d'altérer l'homéostasie neuronale et de perturber la plasticité synaptique, notamment via la réduction de l'expression de PSD-95 et de la synaptophysine, comme cela a été rapporté dans plusieurs modèles murins exposés à l'arsénite (J. Luo et al., 2012; Zhao et al., 2017; Niño et al., 2021). De plus, il a été montré dans le modèle de souris Thy-Tau 22 une infiltration de lymphocytes T dans l'hippocampe, qui est corrélée à l'inflammation et au déclin cognitif (Laurent et al., 2017). On pourrait penser que de tels mécanismes auraient lieu suite à

un traitement à l'AS, à la fois chez les souris WT et chez les Thy-Tau 22. De plus, des études ont montré que l'arsénite pouvait inhiber des complexes de la chaîne respiratoire et ainsi perturber la fonction mitochondriale, ce qui accentue le stress oxydatif (Guidarelli et al., 2017). Enfin, plusieurs études ont mis en évidence une altération de la neurogenèse adulte, notamment dans le gyrus denté de l'hippocampe, sous l'effet d'un stress oxydant chronique, ce qui pourrait contribuer à l'installation de troubles mnésiques durables (Thakur et al., 2021).

Tous ces mécanismes suggèrent que l'arsénite de sodium, même en l'absence de pathologie Tau, pourrait induire des altérations moléculaires et cellulaires suffisantes pour perturber le fonctionnement cérébral et ainsi conduire à des déficits mnésiques, visibles chez les WT uniquement, car la pathologie Tau déjà installée chez les Thy-Tau 22 masquerait les effets de l'arsénite. Les analyses biochimiques et histologiques complémentaires sont essentielles pour mieux comprendre l'impact de l'AS, que ce soit dans un contexte sain (WT) ou pathologique (Thy-Tau22).

Effets du traitement à l'arsénite de sodium sur la pathologie Tau

L'ensemble des approches biochimiques et immunohistochimiques menées dans ce projet met en évidence un impact sélectif de l'arsénite de sodium sur certains aspects de la pathologie Tau. En effet, l'élévation de la phosphorylation de Tau aux sites détectés par les anticorps AT8 (Ser202/Thr205) et pSer396, sans modification détectable de la phosphorylation anormale de Tau, détectée par l'anticorps AT100 (Thr212/Ser214), suggère une régulation site-spécifique de la phosphorylation de Tau lors d'un traitement à l'arsénite de sodium. Plusieurs mécanismes peuvent être envisagés pour expliquer ces résultats.

Tout d'abord, les kinases activées en réponse au stress cellulaire et au stress oxydant induit par l'arsénite de sodium ciblent préférentiellement certains résidus phosphorylés de Tau. En effet, les résidus Ser202/Thr205 (AT8) sont bien établis comme étant des substrats de plusieurs kinases telles que GSK3 β , CDK5, p38 MAPK, ERK1/2, JNK (Godemann et al., 1999; Kimura, Ishiguro, et al., 2014; Martin et al., 2013) et, plus récemment, PERK, activée lors de la réponse intégrée au stress (Radford et al., 2015b; Bruch et al., 2017). La phosphorylation au niveau du résidu Ser396 est également associée à la phosphorylation pathologique de Tau, par des kinases telles que GSK3 β , MARK, p38 et ERK2 (Qi et al., 2016; Mietelska-Porowska et al., 2014; Son et al., 2023), souvent associées à des états avancés de désengagement de Tau des microtubules et à sa redistribution cytoplasmique. Ces sites sont donc sensibles à des voies de signalisation activées par le stress cellulaire, et leur phosphorylation est régulièrement rapportée dans des modèles de tauopathies précoces ou modérées (Montalto & Ricciarelli, 2023).

En revanche, l'épitope reconnu par AT100 (Thr212/Ser214), conformationnel, est généré de manière plus contraignante. Dans l'étude de Zheng-Fischhöfer et al., il est démontré que la phosphorylation des résidus Thr212/Ser214 est un processus séquentiel, avec tout d'abord le résidu Thr212 phosphorylé par GSK3 β , puis le résidu Ser214 par PKA, dans un contexte conformationnel proche des filaments PHF (Zheng-Fischhöfer et al., 1998). Si cette cascade est partiellement inactive, par exemple si PKA n'est pas activée, ou si la conformation de Tau n'est pas favorable, l'épitope AT100 pourrait ne pas se former, même si d'autres sites sont hyperphosphorylés.

Par ailleurs, la phosphorylation de Ser396 et de Ser202/Thr205 est souvent associée à des formes solubles de Tau, précoces et toxiques, ce qui pourrait expliquer leur détection accrue sans nécessité de changements conformationnels majeurs. Il est également important de noter qu'AT100 est le seul anticorps conformationnel que nous avons utilisé dans cette étude ; l'utilisation d'autres anticorps comme MC1, d'apparition plus précoce, ou Alz-50, reconnaissant des conformations anormales et pathologiques de Tau (Jicha et al., 1997; Vitale et al., 2018), aurait permis d'affiner les résultats obtenus avec AT100. Par ailleurs, il serait intéressant de réaliser des co-marquages entre ATF4 et des marqueurs de la pathologie Tau tels que pSer396 ou AT8, afin d'étudier si ces augmentations de phosphorylation au niveau de ces épitopes ont un lien avec l'activation de l'ISR.

Parallèlement, l'ELISA sandwich 2H2D11, développé pour détecter spécifiquement le variant AcMet11-Tau, met en évidence une tendance à l'augmentation de l'expression de ce variant AcMet11-Tau chez les souris Tau22 traitées à l'AS, bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative. Les analyses immunohistochimiques permettent de compléter ces données. Le marquage 2H2D11 révèle une expression somato-dendritique d'AcMet11-Tau dans les neurones en dégénérescence, principalement au niveau de la CA1. Là encore, une tendance à l'augmentation est observée chez les animaux traités, en accord avec les résultats du test ELISA. Ainsi, il est possible que les effets observés sur l'augmentation, certes non significative, du variant AcMet11-Tau soient le début de l'effet de l'arsénite sur la production d'AcMet11-Tau et qu'une durée un peu plus longue du traitement aurait permis de visualiser un effet potentialisateur de l'arsénite de sodium.

Il faut noter que dans nos études, que ce soit en Western Blot ou en immunohistochimie, une certaine hétérogénéité intragroupe a été observée parmi les souris Thy-Tau 22, indépendamment du traitement. Certaines souris présentent des niveaux élevés de phosphorylation de Tau, tandis que d'autres semblent modérément voire peu affectées. Ce constat est également reflété par les analyses du comportement, suggérant une variabilité interindividuelle dans la progression ou la sévérité de la pathologie Tau, indépendamment du traitement. Cette hétérogénéité complique l'interprétation des effets de l'arsénite de sodium. Une augmentation du nombre d'animaux analysés en

immunohistochimie permettrait d'augmenter la puissance statistique et de s'affranchir de l'hétérogénéité.

Nous nous sommes demandé si cette hétérogénéité pouvait être due à une différence d'expression de Tau. Nos analyses transcriptomiques (MAPT) et protéiques (Tau totale) n'ont révélé aucune variation significative entre les groupes, ce qui écarte l'hypothèse d'un biais lié à l'expression différentielle de Tau. Cette analyse nous a également permis de confirmer que l'AS n'avait aucun effet sur les niveaux de transcription de MAPT et l'expression de la protéine Tau. L'hétérogénéité observée serait donc principalement liée à des facteurs intrinsèques, affectant la phosphorylation et la pathologie Tau.

Étude de la réponse intégrée au stress *in vivo*

Notre étude met en évidence une activation de la réponse intégrée au stress, dans l'hippocampe des souris Thy-Tau 22 traitées à l'arsénite de sodium pendant 3 mois. L'immunofluorescence a permis de détecter l'expression d'ATF4, marqueur de l'ISR, dans des zones cérébrales également marquées par l'expression du variant AcMet11-Tau, suggérant alors une activation locale de l'ISR. Quoique ces résultats ne montrent pas un lien de cause à effet entre l'ISR et la production du variant AcMet11-Tau, le co-marquage partiel entre ATF4 et AcMet11-Tau observé dans ces régions soulève l'hypothèse d'un lien entre l'activation de l'ISR et la production du variant AcMet11-Tau, comme cela a été démontré dans nos modèles cellulaires.

Si l'immunohistochimie en visible d'AcMet11-Tau révèle une tendance à l'augmentation de l'expression d'AcMet11-Tau, une quantification plus fine de l'immunofluorescence, associée à une analyse de colocalisation, permettrait d'évaluer plus précisément si ATF4 et AcMet11-Tau sont présents dans les mêmes populations neuronales, et si une relation spatiale forte peut être établie entre l'activation de l'ISR et la production du variant AcMet11-Tau.

L'analyse de marqueurs supplémentaires de l'ISR, tels que CHOP, ATF5 ou GADD34 par qPCR n'a pas révélé de différences significatives entre les souris traitées et les souris contrôles. Cela pourrait suggérer que des mécanismes régulateurs *in vivo* et dans une condition de traitement chronique, absents dans nos modèles cellulaires soumis à un traitement aigu de 6 h, pourraient restreindre dans le temps la réponse transcriptionnelle secondaire à l'activation de l'ISR. De manière cohérente, le facteur de transcription ATF4 n'a pas pu être détecté en Western Blot dans les extraits hippocampiques, contrairement à nos expériences sur les cellules. Cela pourrait s'expliquer par une expression localisée ou transitoire, difficile à détecter dans des lysats totaux, ou par des mécanismes de rétrocontrôle, notamment via GADD34, qui recrute PP1 pour déphosphoryler eIF2 α et ainsi restaurer la traduction globale. Cette boucle de rétrocontrôle négatif pourrait ainsi contenir

l'activation de l'ISR, mais visible en immunofluorescence, méthode plus sensible et localisée. On peut également émettre l'hypothèse qu'à la dose utilisée d'AS (10 mg/L), ou à la durée du traitement (3 mois), le tissu neuronal arrive encore à gérer ce stress, en activant ces mécanismes de régulation de l'ISR.

Dans une expérience complémentaire, nous avons analysé les cerveaux de souris Thy-Tau30 injectés avec des extraits cérébraux humains issus soit de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (AD), soit de sujets contrôles sains. L'analyse immunohistochimique a révélé une augmentation du marquage AcMet11-Tau, uniquement chez les souris injectées avec l'extrait AD. Par ailleurs, l'immunofluorescence a permis de détecter une expression d'ATF4 uniquement dans les cerveaux des souris injectées avec les extraits AD, et ce, dans les mêmes régions que celles marquées pour AcMet11-Tau, à proximité du site d'injection. Puisqu'aucune immunoréactivité pour AcMet11-Tau et ATF4 n'est observée chez les souris contrôles WT injectées avec les extraits AD, ce qui est détecté en immunohistochimie et immunofluorescence n'est pas le variant AcMet11-Tau ou ATF4 présent dans les extraits AD, mais bien une conséquence de l'injection des extraits humains dans le cerveau des souris. Toutefois, des analyses supplémentaires en augmentant le nombre de souris analysées en immunohistochimie et en immunofluorescence doivent être réalisées afin de confirmer ces résultats. Toutefois, plusieurs hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer ces observations.

Il est possible que des composants présents uniquement dans les extraits AD déclenchent la réponse intégrée au stress et favorisent la production ou l'accumulation d'AcMet11-Tau. Ces éléments pourraient inclure la pathologie amyloïde, avec des formes toxiques du peptide A β , des marqueurs de l'inflammation ou des facteurs pro-oxydants, connus pour être capables d'activer la réponse intégrée au stress. On ne peut pas exclure que des formes pathologiques de Tau, présentes dans le tissu cérébral AD, seraient capables d'activer la réponse intégrée au stress. Il serait ainsi intéressant de réaliser des injections intracérébrales de lysats issus de tauopathies primaires. Le fait que ces effets soient absents dans les conditions contrôles (souris WT), suggère que l'activation de l'ISR et l'augmentation d'AcMet11-tau nécessitent un contexte pathologie préalable.

Pour aller plus loin, une analyse plus fine sur ces mêmes coupes pourrait être menée avec des co-marquages entre ATF4 ou d'autres marqueurs de l'ISR et différents marqueurs de la pathologie Tau (ATF8, pSer396). Par ailleurs, l'exploration parallèle de la pathologie amyloïde (A β 42, fragments CTF) et de l'inflammation gliale (GFAP, Iba1, cytokines) dans ces régions permettrait de corrélérer ou non les différents effets induits par les extraits de la MA et leur impact sur l'ISR et la production du variant AcMet11-Tau.

En conclusion, nos résultats suggèrent que l'arsénite de sodium exerce un effet aggravant sur la pathologie Tau, en modulant sélectivement certains sites de phosphorylation (pSer396, AT8) et en tendant à favoriser la production d'AcMet11-Tau. Ces effets apparaissent indépendamment des niveaux globaux de Tau et de la transcription de MAPT, soulignant l'importance de mécanismes post-transcriptionnels et traductionnels. Ces résultats ouvrent la voie à des investigations complémentaires pour déterminer les mécanismes précis impliqués, notamment en explorant le rôle de la réponse intégrée au stress dans les dérégulations de la traduction et de la pathologie Tau *in vivo*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse a permis de démontrer, pour la première fois, que des dérégulations de la traduction, en lien avec l'activation de la réponse intégrée au stress, peuvent conduire à la génération de nouveaux variants N-tronqués de la protéine Tau, tels que AcMet11-Tau, et sont impliquées dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.

Des expériences sur des lignées cellulaires ont montré que l'activation de la réponse intégrée au stress, médiée par l'arsénite de sodium, induit la mise en place d'une traduction alternative du gène *MAPT*, responsable de la production du variant AcMet11-Tau. Ce variant peut être généré à partir du gène humain de Tau, incluant les régions 5'UTR et 3'UTR, soulignant un rôle direct de la machinerie de traduction dans la génération de formes pathologiques de Tau. Ces résultats positionnent la dérégulation de la traduction comme un mécanisme central dans la formation de nouvelles espèces toxiques de Tau.

In vivo, sur la lignée de souris transgéniques Thy-Tau22, le traitement chronique à l'arsénite de sodium a entraîné une augmentation de certains marqueurs de la pathologie Tau, en particulier des formes connues pour être hyperphosphorylées dans la maladie d'Alzheimer, sans toutefois affecter des épitopes anormaux, comme AT100. Un déficit cognitif a pu être mis en évidence chez les souris WT traitées à l'Arsénite de sodium, suggérant un impact fonctionnel du stress cellulaire sur les fonctions cognitives. En parallèle, nous avons pu détecter l'expression d'ATF4 *in vivo* par immunofluorescence, notamment dans les régions cérébrales marquées par AcMet11-Tau, renforçant l'idée d'un lien entre l'activation de la réponse intégrée au stress et la production de cette forme tronquée.

Enfin, l'injection d'extraits cérébraux humains de patients atteints de la maladie d'Alzheimer dans un modèle murin de pathologie Tau (Thy-Tau30) a permis de mettre en évidence que des composants pathologiques présents dans ces extraits (pathologie Tau, amyloïde, inflammation) pouvaient activer la réponse intégrée au stress. Ces résultats posent les bases d'un modèle dans lequel la réponse intégrée au stress jouerait un rôle amplificateur de la pathologie, en favorisant l'émergence de formes pathogènes de Tau par des mécanismes de traduction non canoniques.

Ce travail ouvre la voie à une nouvelle compréhension des mécanismes de la pathologie Tau, en mettant en évidence un lien fonctionnel entre la signalisation du stress cellulaire, les dérégulations de la traduction et la génération de variants pathogènes de Tau. L'étude plus approfondie de la voie de la réponse intégrée au stress *in cellulo* et *in vivo* pourrait permettre de mieux caractériser les

cascades de signalisation impliquées. En effet, il serait intéressant d'étudier plus en détail si l'ISR peut influencer la traduction totale de Tau, ce qui pourrait avoir un impact majeur sur la pathologie, mais également d'étudier la localisation subcellulaire de la traduction, car il est connu qu'il existe une régulation de la traduction locale dans les neurones et que des dérégulations peuvent avoir des conséquences pathologiques, notamment sur la transmission synaptique. De plus, il serait également pertinent d'explorer l'existence d'autres protéoformes tronquées, comme la Met127. Il serait également pertinent d'explorer les interactions entre stress cellulaire, inflammation, pathologie amyloïde et Tau, notamment par des approches multiparamétriques en immunohistochimie ou en transcriptomique. Cela permettrait de mieux comprendre le lien fonctionnel entre la pathologie amyloïde et la pathologie Tau, un enjeu central dans la maladie d'Alzheimer.

Ainsi, l'étude des dérégulations de la traduction de Tau, associées au développement de la pathologie Tau, permettrait de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de la maladie d'Alzheimer, mais également d'ouvrir la voie à l'étude de la dérégulation de la traduction de Tau dans d'autres tauopathies ou maladies neurodégénératives.

BIBLIOGRAPHIE

A

Adedara, I. A., Fabunmi, A. T., Ayenitaju, F. C., Atanda, O. E., Adebawale, A. A., Ajayi, B. O., Owofe, O., Rocha, J. B. T., & Farombi, E. O. (2020). Neuroprotective mechanisms of selenium against arsenic-induced behavioral impairments in rats. *NeuroToxicology*, 76, 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.10.009>

Ahmed, G., Rahaman, Md. S., Perez, E., & Khan, K. M. (2025). Associations of Environmental Exposure to Arsenic, Manganese, Lead, and Cadmium with Alzheimer's Disease : A Review of Recent Evidence from Mechanistic Studies. *Journal of Xenobiotics*, 15(2), 47. <https://doi.org/10.3390/jox15020047>

Amadoro, G., Corsetti, V., Atlante, A., Florenzano, F., Capsoni, S., Bussani, R., Mercanti, D., & Calissano, P. (2012). Interaction between NH₂-tau fragment and A β in Alzheimer's disease mitochondria contributes to the synaptic deterioration. *Neurobiology of Aging*, 33(4), 833.e1-25. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.08.001>

Amadoro, G., Corsetti, V., Florenzano, F., Atlante, A., Ciotti, M. T., Mongiardì, M. P., Bussani, R., Nicolin, V., Nori, S. L., Campanella, M., & Calissano, P. (2014). AD-linked, toxic NH₂ human tau affects the quality control of mitochondria in neurons. *Neurobiology of Disease*, 62, 489-507. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.10.018>

Amadoro, G., Latina, V., Corsetti, V., & Calissano, P. (2020). N-terminal tau truncation in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) : Developing a novel diagnostic and therapeutic approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1866(3), 165584. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.165584>

Ambadipudi, S., Biernat, J., Riedel, D., Mandelkow, E., & Zweckstetter, M. (2017). Liquid-liquid phase separation of the microtubule-binding repeats of the Alzheimer-related protein Tau. *Nature Communications*, 8(1), 275. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00480-0>

Amorim, I. S., Lach, G., & Gkogkas, C. G. (2018). The Role of the Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E (eIF4E) in Neuropsychiatric Disorders. *Frontiers in Genetics*, 9, 561. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00561>

Andreadis, A. (2005). Tau gene alternative splicing : Expression patterns, regulation and modulation of function in normal brain and neurodegenerative diseases. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1739(2-3), 91-103. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.08.010>

Andreadis, A., Broderick, J. A., & Kosik, K. S. (1995). Relative exon affinities and suboptimal splice site signals lead to non-equivalence of two cassette exons. *Nucleic Acids Research*, 23(17), 3585-3593. <https://doi.org/10.1093/nar/23.17.3585>

Andreadis, A., Brown, W. M., & Kosik, K. S. (1992). Structure and novel exons of the human tau gene. *Biochemistry*, 31(43), 10626-10633. <https://doi.org/10.1021/bi00158a027>

Apicco, D. J., Ash, P. E. A., Maziuk, B., LeBlang, C., Medalla, M., Al Abdullatif, A., Ferragud, A., Botelho, E., Ballance, H. I., Dhawan, U., Boudeau, S., Cruz, A. L., Kashy, D., Wong, A., Goldberg, L. R., Yazdani, N., Zhang, C., Ung, C. Y., Tripodis, Y., ... Wolozin, B. (2018). Reducing the RNA binding protein TIA1 protects against tau-mediated neurodegeneration in vivo. *Nature Neuroscience*, 21(1), 72-80. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0022-z>

- Arai, T., Miklossy, J., Klegeris, A., Guo, J.-P., & McGeer, P. L. (2006). Thrombin and prothrombin are expressed by neurons and glial cells and accumulate in neurofibrillary tangles in Alzheimer disease brain. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 65(1), 19-25. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000196133.74087.cb>
- Arango-Lievano, M., Peguet, C., Catteau, M., Parmentier, M.-L., Wu, S., Chao, M. V., Ginsberg, S. D., & Jeanneteau, F. (2016). Deletion of Neurotrophin Signaling through the Glucocorticoid Receptor Pathway Causes Tau Neuropathology. *Scientific Reports*, 6, 37231. <https://doi.org/10.1038/srep37231>
- Arnesen, T., Starheim, K. K., Van Damme, P., Evjenth, R., Dinh, H., Betts, M. J., Rynningen, A., Vandekerckhove, J., Gevaert, K., & Anderson, D. (2010). The chaperone-like protein HYPK acts together with NatA in cotranslational N-terminal acetylation and prevention of Huntingtin aggregation. *Molecular and Cellular Biology*, 30(8), 1898-1909. <https://doi.org/10.1128/MCB.01199-09>
- Aronov, S., Aranda, G., Behar, L., & Ginzburg, I. (2001). Axonal tau mRNA localization coincides with tau protein in living neuronal cells and depends on axonal targeting signal. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(17), 6577-6587. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-17-06577.2001>
- Asaumi, M., Iijima, K., Sumioka, A., Iijima-Ando, K., Kirino, Y., Nakaya, T., & Suzuki, T. (2005). Interaction of N-terminal acetyltransferase with the cytoplasmic domain of beta-amyloid precursor protein and its effect on A beta secretion. *Journal of Biochemistry*, 137(2), 147-155. <https://doi.org/10.1093/jb/mvi014>
- Ashford, J. W., Kolm, P., Colliver, J. A., Bekian, C., & Hsu, L. N. (1989). Alzheimer patient evaluation and the mini-mental state : Item characteristic curve analysis. *Journal of Gerontology*, 44(5), P139-146. <https://doi.org/10.1093/geronj/44.5.p139>
- Ashton, N. J., Ide, M., Schöll, M., Blennow, K., Lovestone, S., Hye, A., & Zetterberg, H. (2018). No association of salivary total tau concentration with Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 70, 125-127. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.014>
- Ashton, N. J., Ide, M., Zetterberg, H., & Blennow, K. (2019). Salivary Biomarkers for Alzheimer's Disease and Related Disorders. *Neurology and Therapy*, 8(Suppl 2), 83-94. <https://doi.org/10.1007/s40120-019-00168-1>
- Augustinack, J. C., Schneider, A., Mandelkow, E.-M., & Hyman, B. T. (2002). Specific tau phosphorylation sites correlate with severity of neuronal cytopathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 103(1), 26-35. <https://doi.org/10.1007/s004010100423>
- Avila, J. (2006). Tau phosphorylation and aggregation in Alzheimer's disease pathology. *FEBS Letters*, 580(12), 2922-2927. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.02.067>
- Avila, J., Lucas, J. J., Pérez, M., & Hernández, F. (2004). Role of Tau Protein in Both Physiological and Pathological Conditions. *Physiological Reviews*, 84(2), 361-384. <https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2003>
- Aviner, R. (2020). The science of puromycin : From studies of ribosome function to applications in biotechnology. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 1074-1083. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.04.014>

B

- B, L., X, L., B, Z., X, Z., Y, W., Y, X., H, W., Y, H., Q, Z., & G, S. (2013). Sodium arsenite induced reactive oxygen species generation, nuclear factor (erythroid-2 related) factor 2 activation, heme oxygenase-1 expression, and glutathione elevation in Chang human hepatocytes. *Environmental Toxicology*, 28(7). <https://doi.org/10.1002/tox.20731>
- Baas, P. W., Slaughter, T., Brown, A., & Black, M. M. (1991). Microtubule dynamics in axons and dendrites. *Journal of Neuroscience Research*, 30(1), 134-153. <https://doi.org/10.1002/jnr.490300115>
- Bachmair, A., Finley, D., & Varshavsky, A. (1986). In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science (New York, N.Y.)*, 234(4773), 179-186. <https://doi.org/10.1126/science.3018930>
- Barghorn, S., Zheng-Fischhöfer, Q., Ackmann, M., Biernat, J., von Bergen, M., Mandelkow, E. M., & Mandelkow, E. (2000). Structure, microtubule interactions, and paired helical filament aggregation by tau mutants of frontotemporal dementias. *Biochemistry*, 39(38), 11714-11721. <https://doi.org/10.1021/bi000850r>
- Bartels, T., Kim, N. C., Luth, E. S., & Selkoe, D. J. (2014). N-alpha-acetylation of α -synuclein increases its helical folding propensity, GM1 binding specificity and resistance to aggregation. *PLoS One*, 9(7), e103727. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103727>
- Basu, M., Courtney, S. C., & Brinton, M. A. (2017). Arsenite-induced stress granule formation is inhibited by elevated levels of reduced glutathione in West Nile virus-infected cells. *PLoS Pathogens*, 13(2), e1006240. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006240>
- Basurto-Islas, G., Luna-Muñoz, J., Guillozet-Bongaarts, A. L., Binder, L. I., Mena, R., & García-Sierra, F. (2008). Accumulation of aspartic acid421- and glutamic acid391-cleaved tau in neurofibrillary tangles correlates with progression in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 67(5), 470-483. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31817275c7>
- Beck, J. S., Mufson, E. J., & Counts, S. E. (2016). Evidence for Mitochondrial UPR Gene Activation in Familial and Sporadic Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, 13(6), 610-614. <https://doi.org/10.2174/1567205013666151221145445>
- Bertram, L., Lill, C. M., & Tanzi, R. E. (2010). The genetics of Alzheimer disease : Back to the future. *Neuron*, 68(2), 270-281. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.10.013>
- Bhat, R. V., Leonov, S., Luthman, J., Scott, C. W., & Lee, C.-M. (2002). Interactions between GSK3beta and caspase signalling pathways during NGF deprivation induced cell death. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 4(4), 291-301. <https://doi.org/10.3233/jad-2002-4404>
- Bhat, R. V., Shanley, J., Correll, M. P., Fieles, W. E., Keith, R. A., Scott, C. W., & Lee, C. M. (2000). Regulation and localization of tyrosine216 phosphorylation of glycogen synthase kinase-3beta in cellular and animal models of neuronal degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(20), 11074-11079. <https://doi.org/10.1073/pnas.190297597>
- Bibl, M., Mollenhauer, B., Esselmann, H., Lewczuk, P., Klafki, H.-W., Sparbier, K., Smirnov, A., Cepek, L., Trenkwalder, C., Rütger, E., Kornhuber, J., Otto, M., & Wiltfang, J. (2006). CSF amyloid-beta-

peptides in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Brain: A Journal of Neurology*, 129(Pt 5), 1177-1187. <https://doi.org/10.1093/brain/awl063>

Bibl, M., Mollenhauer, B., Lewczuk, P., Esselmann, H., Wolf, S., Trenkwalder, C., Otto, M., Stiens, G., R  ther, E., Kornhuber, J., & Wiltfang, J. (2007). Validation of amyloid-beta peptides in CSF diagnosis of neurodegenerative dementias. *Molecular Psychiatry*, 12(7), 671-680. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001967>

Biernat, J., Gustke, N., Drewes, G., Mandelkow, E. M., & Mandelkow, E. (1993). Phosphorylation of Ser262 strongly reduces binding of tau to microtubules: Distinction between PHF-like immunoreactivity and microtubule binding. *Neuron*, 11(1), 153-163. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(93\)90279-z](https://doi.org/10.1016/0896-6273(93)90279-z)

Biundo, F., d'Abramo, C., Tambini, M. D., Zhang, H., Del Prete, D., Vitale, F., Giliberto, L., Arancio, O., & D'Adamio, L. (2017). Abolishing Tau cleavage by caspases at Aspartate421 causes memory/synaptic plasticity deficits and pre-pathological Tau alterations. *Translational Psychiatry*, 7(8), e1198. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.165>

Black, M. M., Slaughter, T., Moshia, S., Obrocka, M., & Fischer, I. (1996). Tau is enriched on dynamic microtubules in the distal region of growing axons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(11), 3601-3619. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-11-03601.1996>

Bloom, G. S. (2014). Amyloid-   and tau: The trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA Neurology*, 71(4), 505-508. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.5847>

Bogaert, A., Fernandez, E., & Gevaert, K. (2020). N-Terminal Proteoforms in Human Disease. *Trends in Biochemical Sciences*, 45(4), 308-320. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.12.009>

Bond, S., Lopez-Lloreda, C., Gannon, P. J., Akay-Espinoza, C., & Jordan-Sciutto, K. L. (2020). The Integrated Stress Response and Phosphorylated Eukaryotic Initiation Factor 2   in Neurodegeneration. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 79(2), 123-143. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlz129>

Bou Samra, E., Buhagiar-Labarch  de, G., Machon, C., Guitton, J., Onclercq-Delic, R., Green, M. R., Alibert, O., Gazin, C., Veaute, X., & Amor-Gu  ret, M. (2017). A role for Tau protein in maintaining ribosomal DNA stability and cytidine deaminase-deficient cell survival. *Nature Communications*, 8(1), 693. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00633-1>

Boyarko, B., & Hook, V. (2021). Human Tau Isoforms and Proteolysis for Production of Toxic Tau Fragments in Neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 702788. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.702788>

Braak, H., & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*, 82(4), 239-259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>

Braak, H., Ghebremedhin, E., R  b, U., Bratzke, H., & Del Tredici, K. (2004). Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell and Tissue Research*, 318(1), 121-134. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0956-9>

Braak, H., Thal, D. R., Ghebremedhin, E., & Del Tredici, K. (2011). Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: Age categories from 1 to 100 years. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 70(11), 960-969. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318232a379>

Brandt, R., Léger, J., & Lee, G. (1995). Interaction of tau with the neural plasma membrane mediated by tau's amino-terminal projection domain. *The Journal of Cell Biology*, 131(5), 1327-1340. <https://doi.org/10.1083/jcb.131.5.1327>

Bravo-Jimenez, M. A., Sharma, S., & Karimi-Abdolrezaee, S. (2025). The integrated stress response in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurodegeneration*, 20, 20. <https://doi.org/10.1186/s13024-025-00811-6>

Bretteville, A., Ando, K., Ghestem, A., Loyens, A., Bégard, S., Beauvillain, J.-C., Sergeant, N., Hamdane, M., & Buée, L. (2009). Two-Dimensional Electrophoresis of Tau Mutants Reveals Specific Phosphorylation Pattern Likely Linked to Early Tau Conformational Changes. *PLoS ONE*, 4(3), e4843. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004843>

Brier, M. R., Gordon, B., Friedrichsen, K., McCarthy, J., Stern, A., Christensen, J., Owen, C., Aldea, P., Su, Y., Hassenstab, J., Cairns, N. J., Holtzman, D. M., Fagan, A. M., Morris, J. C., Benzinger, T. L. S., & Ances, B. M. (2016). Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Science Translational Medicine*, 8(338), 338ra66. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf2362>

Brion, J. P., Couck, A. M., Passareiro, E., & Flament-Durand, J. (1985). Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: An immunohistochemical study. *Journal of Submicroscopic Cytology*, 17(1), 89-96.

Broeck, A. V., & Klinge, S. (s. d.). *Eukaryotic Ribosome Assembly*.

Bruch, J., Xu, H., Rösler, T. W., De Andrade, A., Kuhn, P.-H., Lichtenthaler, S. F., Arzberger, T., Winklhofer, K. F., Müller, U., & Höglinger, G. U. (2017). PERK activation mitigates tau pathology in vitro and in vivo. *EMBO Molecular Medicine*, 9(3), 371-384. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606664>

Buchholz, S., & Zempel, H. (2024). The six brain-specific TAU isoforms and their role in Alzheimer's disease and related neurodegenerative dementia syndromes. *Alzheimer's & Dementia*, 20(5), 3606-3628. <https://doi.org/10.1002/alz.13784>

Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., & Hof, P. R. (2000a). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 33(1), 95-130. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(00\)00019-9](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(00)00019-9)

Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., & Hof, P. R. (2000b). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders1. *Brain Research Reviews*, 33(1), 95-130. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00019-9](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00019-9)

Butner, K. A., & Kirschner, M. W. (1991). Tau protein binds to microtubules through a flexible array of distributed weak sites. *The Journal of Cell Biology*, 115(3), 717-730. <https://doi.org/10.1083/jcb.115.3.717>

C

Caceres, A., & Kosik, K. S. (1990). Inhibition of neurite polarity by tau antisense oligonucleotides in primary cerebellar neurons. *Nature*, 343(6257), 461-463. <https://doi.org/10.1038/343461a0>

Cao, L., Liang, Y., Liu, Y., Xu, Y., Wan, W., & Zhu, C. (2018). Pseudo-phosphorylation at AT8 epitopes regulates the tau truncation at aspartate 421. *Experimental Cell Research*, 370(1), 103-115. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.06.010>

- Chanda, D., Kim, S.-J., Lee, I.-K., Shong, M., & Choi, H.-S. (2008). Sodium arsenite induces orphan nuclear receptor SHP gene expression via AMP-activated protein kinase to inhibit gluconeogenic enzyme gene expression. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 295(2), E368-379. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00800.2007>
- Chang, E., Kim, S., Yin, H., Nagaraja, H. N., & Kuret, J. (2008). Pathogenic missense MAPT mutations differentially modulate tau aggregation propensity at nucleation and extension steps. *Journal of Neurochemistry*, 107(4), 1113-1123. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05692.x>
- Chang, R. C. C., Wong, A. K. Y., Ng, H.-K., & Hugon, J. (s. d.). *Phosphorylation of eukaryotic initiation factor-2a (eIF2a) is associated with neuronal degeneration in Alzheimer's disease*.
- Chang, R. C.-C., Suen, K.-C., Ma, C.-H., Elyaman, W., Ng, H.-K., & Hugon, J. (2002). Involvement of double-stranded RNA-dependent protein kinase and phosphorylation of eukaryotic initiation factor-2alpha in neuronal degeneration. *Journal of Neurochemistry*, 83(5), 1215-1225. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.01237.x>
- Chasseigneaux, S., & Allinquant, B. (2012). Functions of A β , sAPP α and sAPP β : Similarities and differences. *Journal of Neurochemistry*, 120 Suppl 1, 99-108. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07584.x>
- Chen, G., Mao, J., Zhao, J., Zhang, Y., Li, T., Wang, C., Xu, L., Hu, Q., Wang, X., Jiang, S., Nie, X., & Wu, Q. (2016). Arsenic trioxide mediates HAPI microglia inflammatory response and the secretion of inflammatory cytokine IL-6 via Akt/NF- κ B signaling pathway. *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP*, 81, 480-488. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.09.027>
- Chen, Q., Zhou, Z., Zhang, L., Wang, Y., Zhang, Y., Zhong, M., Xu, S., Chen, C., Li, L., & Yu, Z. (2012). Tau protein is involved in morphological plasticity in hippocampal neurons in response to BDNF. *Neurochemistry International*, 60(3), 233-242. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.12.013>
- Chen, Y., Dang, M., & Zhang, Z. (2021). Brain mechanisms underlying neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease : A systematic review of symptom-general and -specific lesion patterns. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00456-1>
- Cheng, L., Zhang, Y., Lv, M., Huang, W., Zhang, K., Guan, Z., Feng, X., Yang, Y., Gao, Y., & Liu, X. (2024). Impaired learning and memory in male mice induced by sodium arsenite was associated with MMP-2/MMP-9-mediated blood-brain barrier disruption and neuronal apoptosis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 285, 117016. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.117016>
- Cheng, Y., & Bai, F. (2018). The Association of Tau With Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 163. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00163>
- Chinnathambi, S., Velmurugan, G., & Chandrashekar, M. (2025). Tau protein structure and dynamics. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 147, 241-258. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2024.09.002>
- Cho, J.-H., & Johnson, G. V. W. (2004a). Glycogen synthase kinase 3 beta induces caspase-cleaved tau aggregation in situ. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(52), 54716-54723. <https://doi.org/10.1074/jbc.M403364200>
- Cho, J.-H., & Johnson, G. V. W. (2004b). Primed phosphorylation of tau at Thr231 by glycogen synthase kinase 3beta (GSK3beta) plays a critical role in regulating tau's ability to bind and stabilize

microtubules. *Journal of Neurochemistry*, 88(2), 349-358. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02155.x>

Chu, D., Yang, X., Wang, J., Zhou, Y., Gu, J.-H., Miao, J., Wu, F., & Liu, F. (2024). Tau truncation in the pathogenesis of Alzheimer's disease: A narrative review. *Neural Regeneration Research*, 19(6), 1221-1232. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.385853>

Chung, F. F.-L., Khoeiry, R., Sallé, A., Cuenin, C., Bošković, M., & Herceg, Z. (2024). Sodium arsenite-induced DNA methylation alterations exacerbated by p53 knockout in MCF7 cells. *Heliyon*, 10(21), e39548. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39548>

Ciccone, L., Vandooren, J., Nencetti, S., & Orlandini, E. (2021). Natural Marine and Terrestrial Compounds as Modulators of Matrix Metalloproteinases-2 (MMP-2) and MMP-9 in Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(2), 86. <https://doi.org/10.3390/ph14020086>

Cicognola, C., Brinkmalm, G., Wahlgren, J., Portelius, E., Gobom, J., Cullen, N. C., Hansson, O., Parnetti, L., Constantinescu, R., Wildsmith, K., Chen, H.-H., Beach, T. G., Lashley, T., Zetterberg, H., Blennow, K., & Höglund, K. (2019). Novel tau fragments in cerebrospinal fluid: Relation to tangle pathology and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 137(2), 279-296. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1948-2>

Cicognola, C., Satir, T. M., Brinkmalm, G., Matečko-Burmann, I., Agholme, L., Bergström, P., Becker, B., Zetterberg, H., Blennow, K., & Höglund, K. (2020). Tauopathy-Associated Tau Fragment Ending at Amino Acid 224 Is Generated by Calpain-2 Cleavage. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 74(4), 1143-1156. <https://doi.org/10.3233/JAD-191130>

Clavaguera, F., Bolmont, T., Crowther, R. A., Abramowski, D., Frank, S., Probst, A., Fraser, G., Stalder, A. K., Beibel, M., Staufenbiel, M., Jucker, M., Goedert, M., & Tolnay, M. (2009). Transmission and spreading of tauopathy in transgenic mouse brain. *Nature Cell Biology*, 11(7), 909-913. <https://doi.org/10.1038/ncb1901>

Cleveland, D. W., Hwo, S. Y., & Kirschner, M. W. (1977a). Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology*, 116(2), 207-225. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(77\)90213-3](https://doi.org/10.1016/0022-2836(77)90213-3)

Cleveland, D. W., Hwo, S.-Y., & Kirschner, M. W. (1977b). Physical and chemical properties of purified tau factor and the role of tau in microtubule assembly. *Journal of Molecular Biology*, 116(2), 227-247. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(77\)90214-5](https://doi.org/10.1016/0022-2836(77)90214-5)

Cleveland, D. W., Hwo, S.-Y., & Kirschner, M. W. (1977c). Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology*, 116(2), 207-225. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(77\)90213-3](https://doi.org/10.1016/0022-2836(77)90213-3)

Cohen, P., & Goedert, M. (2004). GSK3 inhibitors: Development and therapeutic potential. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 3(6), 479-487. <https://doi.org/10.1038/nrd1415>

Colin, M., Dujardin, S., Schraen-Maschke, S., Meno-Tetang, G., Duyckaerts, C., Courade, J.-P., & Buée, L. (2020). From the prion-like propagation hypothesis to therapeutic strategies of anti-tau immunotherapy. *Acta Neuropathologica*, 139(1), 3-25. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02087-9>

Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G. W., Roses, A. D., Haines, J. L., & Pericak-Vance, M. A. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele

and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science (New York, N.Y.)*, 261(5123), 921-923. <https://doi.org/10.1126/science.8346443>

Corsetti, V., Amadoro, G., Gentile, A., Capsoni, S., Ciotti, M. T., Cencioni, M. T., Atlante, A., Canu, N., Rohn, T. T., Cattaneo, A., & Calissano, P. (2008). Identification of a caspase-derived N-terminal tau fragment in cellular and animal Alzheimer's disease models. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 38(3), 381-392. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.03.011>

Costa-Mattioli, M., & Walter, P. (2020). The integrated stress response : From mechanism to disease. *Science*, 368(6489), eaat5314. <https://doi.org/10.1126/science.aat5314>

Couchie, D., Mavilia, C., Georgieff, I. S., Liem, R. K., Shelanski, M. L., & Nunez, J. (1992). Primary structure of high molecular weight tau present in the peripheral nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(10), 4378-4381. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.10.4378>

Courtois, S., Verhaegh, G., North, S., Luciani, M.-G., Lassus, P., Hibner, U., Oren, M., & Hainaut, P. (2002). DeltaN-p53, a natural isoform of p53 lacking the first transactivation domain, counteracts growth suppression by wild-type p53. *Oncogene*, 21(44), 6722-6728. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205874>

Creekmore, B. C., Watanabe, R., & Lee, E. B. (2024). Neurodegenerative Disease Tauopathies. *Annual Review of Pathology*, 19, 345-370. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-051222-120750>

Cross, D. C., Muñoz, J. P., Hernández, P., & Maccioni, R. B. (2000). Nuclear and cytoplasmic tau proteins from human nonneuronal cells share common structural and functional features with brain tau. *Journal of Cellular Biochemistry*, 78(2), 305-317.

D

Da Costa, P. J., Hamdane, M., Buée, L., & Martin, F. (2022). Tau mRNA Metabolism in Neurodegenerative Diseases : A Tangle Journey. *Biomedicines*, 10(2), 241. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020241>

da Costa, P. J., Perret, A., Buée, L., Hamdane, M., & Martin, F. (2024). FTLD-MAPT mutations and short 5'UTR Tau mRNAs increase Tau translation. *NAR Molecular Medicine*, 1(4), ugae023. <https://doi.org/10.1093/narmme/ugae023>

DaRocha-Souto, B., Coma, M., Pérez-Nievas, B. G., Scotton, T. C., Siao, M., Sánchez-Ferrer, P., Hashimoto, T., Fan, Z., Hudry, E., Barroeta, I., Serenó, L., Rodríguez, M., Sánchez, M. B., Hyman, B. T., & Gómez-Isla, T. (2012). Activation of glycogen synthase kinase-3 beta mediates β -amyloid induced neuritic damage in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 45(1), 425-437. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.09.002>

David, A., Dolan, B. P., Hickman, H. D., Knowlton, J. J., Clavarino, G., Pierre, P., Bennink, J. R., & Yewdell, J. W. (2012). Nuclear translation visualized by ribosome-bound nascent chain puromycylation. *The Journal of Cell Biology*, 197(1), 45-57. <https://doi.org/10.1083/jcb.201112145>

- Dawson, H. N., Ferreira, A., Eyster, M. V., Ghoshal, N., Binder, L. I., & Vitek, M. P. (2001). Inhibition of neuronal maturation in primary hippocampal neurons from tau deficient mice. *Journal of Cell Science*, 114(Pt 6), 1179-1187. <https://doi.org/10.1242/jcs.114.6.1179>
- Day, R. J., Mason, M. J., Thomas, C., Poon, W. W., & Rohn, T. T. (2015). Caspase-Cleaved Tau Co-Localizes with Early Tangle Markers in the Human Vascular Dementia Brain. *PloS One*, 10(7), e0132637. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132637>
- de la Cadena, S. G., Hernández-Fonseca, K., Camacho-Arroyo, I., & Massieu, L. (2014). Glucose deprivation induces reticulum stress by the PERK pathway and caspase-7- and calpain-mediated caspase-12 activation. *Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death*, 19(3), 414-427. <https://doi.org/10.1007/s10495-013-0930-7>
- Dear, T. N., & Boehm, T. (2001). Identification and characterization of two novel calpain large subunit genes. *Gene*, 274(1-2), 245-252. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(01\)00599-6](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(01)00599-6)
- Dehmelt, L., & Halpain, S. (2005). The MAP2/Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biology*, 6(1), 204. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-6-1-204>
- Deng, J., Harding, H. P., Raught, B., Gingras, A.-C., Berlanga, J. J., Scheuner, D., Kaufman, R. J., Ron, D., & Sonenberg, N. (2002). Activation of GCN2 in UV-irradiated cells inhibits translation. *Current Biology: CB*, 12(15), 1279-1286. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(02\)01037-0](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(02)01037-0)
- Derisbourg, M. J., Hartman, M. D., & Denzel, M. S. (2021). Perspective : Modulating the integrated stress response to slow aging and ameliorate age-related pathology. *Nature Aging*, 1(9), 760-768. <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00112-9>
- Derisbourg, M., Leghay, C., Chiappetta, G., Fernandez-Gomez, F.-J., Laurent, C., Demeyer, D., Carrier, S., Buée-Scherrer, V., Blum, D., Vinh, J., Sergeant, N., Verdier, Y., Buée, L., & Hamdane, M. (2015). Role of the Tau N-terminal region in microtubule stabilization revealed by new endogenous truncated forms. *Scientific Reports*, 5, 9659. <https://doi.org/10.1038/srep09659>
- Desai, A., & Mitchison, T. J. (1997). Microtubule polymerization dynamics. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 13, 83-117. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.13.1.83>
- Dever, T. E., & Green, R. (2012). The elongation, termination, and recycling phases of translation in eukaryotes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(7), a013706. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a013706>
- Devi, L., & Ohno, M. (2013). Deletion of the eIF2 α Kinase GCN2 fails to rescue the memory decline associated with Alzheimer's disease. *PloS One*, 8(10), e77335. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077335>
- Diniz, B. S., Butters, M. A., Albert, S. M., Dew, M. A., & Reynolds, C. F. (2013). Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease : Systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 202(5), 329-335. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.112.118307>
- Dixit, R., Ross, J. L., Goldman, Y. E., & Holzbaur, E. L. F. (2008). Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. *Science (New York, N.Y.)*, 319(5866), 1086-1089. <https://doi.org/10.1126/science.1152993>

Donnelly, N., Gorman, A. M., Gupta, S., & Samali, A. (2013). The eIF2 α kinases : Their structures and functions. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 70(19), 3493-3511. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1252-6>

Drazic, A., Myklebust, L. M., Ree, R., & Arnesen, T. (2016). The world of protein acetylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1864(10), 1372-1401. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.06.007>

Drechsel, D. N., Hyman, A. A., Cobb, M. H., & Kirschner, M. W. (1992). Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. *Molecular Biology of the Cell*, 3(10), 1141-1154. <https://doi.org/10.1091/mbc.3.10.1141>

Drewes, G., Trinczek, B., Illenberger, S., Biernat, J., Schmitt-Ulms, G., Meyer, H. E., Mandelkow, E. M., & Mandelkow, E. (1995). Microtubule-associated protein/microtubule affinity-regulating kinase (p110mark). A novel protein kinase that regulates tau-microtubule interactions and dynamic instability by phosphorylation at the Alzheimer-specific site serine 262. *The Journal of Biological Chemistry*, 270(13), 7679-7688. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.13.7679>

Drubin, D. G., Feinstein, S. C., Shooter, E. M., & Kirschner, M. W. (1985). Nerve growth factor-induced neurite outgrowth in PC12 cells involves the coordinate induction of microtubule assembly and assembly-promoting factors. *The Journal of Cell Biology*, 101(5 Pt 1), 1799-1807. <https://doi.org/10.1083/jcb.101.5.1799>

D'Souza, I., Poorkaj, P., Hong, M., Nochlin, D., Lee, V. M.-Y., Bird, T. D., & Schellenberg, G. D. (1999). Missense and silent tau gene mutations cause frontotemporal dementia with parkinsonism-chromosome 17 type, by affecting multiple alternative RNA splicing regulatory elements. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(10), 5598-5603. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.10.5598>

Dujardin, S., Bégard, S., Caillierez, R., Lachaud, C., Delattre, L., Carrier, S., Loyens, A., Galas, M.-C., Bousset, L., Melki, R., Aurégan, G., Hantraye, P., Brouillet, E., Buée, L., & Colin, M. (2014). Ectosomes : A new mechanism for non-exosomal secretion of tau protein. *PloS One*, 9(6), e100760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100760>

Dujardin, S., Lécolle, K., Caillierez, R., Bégard, S., Zommer, N., Lachaud, C., Carrier, S., Dufour, N., Aurégan, G., Winderickx, J., Hantraye, P., Déglon, N., Colin, M., & Buée, L. (2014). Neuron-to-neuron wild-type Tau protein transfer through a trans-synaptic mechanism: Relevance to sporadic tauopathies. *Acta Neuropathologica Communications*, 2, 14. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-2-14>

E

East, D. A., Sousa, D., Martin, S. R., Edwards, T. A., Lehman, W., & Mulvihill, D. P. (2011). Altering the stability of the Cdc8 overlap region modulates the ability of this tropomyosin to bind co-operatively to actin and regulate myosin. *The Biochemical Journal*, 438(2), 265-273. <https://doi.org/10.1042/BJ20101316>

Eikelenboom, P., & Stam, F. C. (1982). Immunoglobulins and complement factors in senile plaques. An immunoperoxidase study. *Acta Neuropathologica*, 57(2-3), 239-242. <https://doi.org/10.1007/BF00685397>

Elfakess, R., & Dikstein, R. (2008). A translation initiation element specific to mRNAs with very short 5'UTR that also regulates transcription. *PLoS One*, 3(8), e3094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003094>

Elfakess, R., Sinvani, H., Haimov, O., Svitkin, Y., Sonenberg, N., & Dikstein, R. (2011). Unique translation initiation of mRNAs-containing TISU element. *Nucleic Acids Research*, 39(17), 7598-7609. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr484>

English, A. W., Liu, X., Mistretta, O. C., Ward, P. J., & Ye, K. (2021). Asparagine Endopeptidase (δ Secretase), an Enzyme Implicated in Alzheimer's Disease Pathology, Is an Inhibitor of Axon Regeneration in Peripheral Nerves. *eNeuro*, 8(1), ENEURO.0155-20.2020. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0155-20.2020>

Ezerskiy, L. A., Schoch, K. M., Sato, C., Beltcheva, M., Horie, K., Rigo, F., Martynowicz, R., Karch, C. M., Bateman, R. J., & Miller, T. M. (2022). Astrocytic 4R tau expression drives astrocyte reactivity and dysfunction. *JCI Insight*, 7(1), e152012. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.152012>

F

Fallahzadeh-Abarghoeei, L., Samadaei-Ghadikolaie, M., Saadat, I., & Saadat, M. (2017). Effect of Sodium Arsenite on the Expression of Antioxidant Genes (SOD2 and CAT) in MCF-7 and Jurkat Cell Lines. *Iranian Journal of Public Health*, 46(2), 229-234.

Feinstein, S. C., & Wilson, L. (2005). Inability of tau to properly regulate neuronal microtubule dynamics : A loss-of-function mechanism by which tau might mediate neuronal cell death. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1739(2-3), 268-279. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.07.002>

Ferrer, I., Blanco, R., Carmona, M., Ribera, R., Goutan, E., Puig, B., Rey, M. J., Cardozo, A., Viñals, F., & Ribalta, T. (2001). Phosphorylated map kinase (ERK1, ERK2) expression is associated with early tau deposition in neurones and glial cells, but not with increased nuclear DNA vulnerability and cell death, in Alzheimer disease, Pick's disease, progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 11(2), 144-158. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2001.tb00387.x>

Firth, A. E., & Brierley, I. (2012). Non-canonical translation in RNA viruses. *The Journal of General Virology*, 93(Pt 7), 1385-1409. <https://doi.org/10.1099/vir.0.042499-0>

Fischer, D., Mukrasch, M. D., Biernat, J., Bibow, S., Blackledge, M., Griesinger, C., Mandelkow, E., & Zweckstetter, M. (2009). Conformational changes specific for pseudophosphorylation at serine 262 selectively impair binding of tau to microtubules. *Biochemistry*, 48(42), 10047-10055. <https://doi.org/10.1021/bi901090m>

Fischer, I. (2023). Big Tau : What We Know, and We Need to Know. *eNeuro*, 10(5), ENEURO.0052-23.2023. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0052-23.2023>

Flaten, V., Laurent, C., Coelho, J. E., Sandau, U., Batalha, V. L., Burnouf, S., Hamdane, M., Humez, S., Boison, D., Lopes, L. V., Buée, L., & Blum, D. (2014). From epidemiology to pathophysiology : What about caffeine in Alzheimer's disease? *Biochemical Society Transactions*, 42(2), 587-592. <https://doi.org/10.1042/BST20130229>

Foster, N. L., Wilhelmsen, K., Sima, A. A., Jones, M. Z., D'Amato, C. J., & Gilman, S. (1997). Frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17: A consensus conference. Conference Participants. *Annals of Neurology*, 41(6), 706-715. <https://doi.org/10.1002/ana.410410606>

Fukao, A., Tomohiro, T., & Fujiwara, T. (2021). Translation Initiation Regulated by RNA-Binding Protein in Mammals : The Modulation of Translation Initiation Complex by Trans-Acting Factors. *Cells*, 10(7), 1711. <https://doi.org/10.3390/cells10071711>

Fuster-Matanzo, A., Llorens-Martín, M., Jurado-Arjona, J., Avila, J., & Hernández, F. (2012). Tau protein and adult hippocampal neurogenesis. *Frontiers in Neuroscience*, 6, 104. <https://doi.org/10.3389/fnins.2012.00104>

G

Gamblin, T. C., Chen, F., Zambrano, A., Abraha, A., Lagalwar, S., Guillozet, A. L., Lu, M., Fu, Y., Garcia-Sierra, F., LaPointe, N., Miller, R., Berry, R. W., Binder, L. I., & Cryns, V. L. (2003). Caspase cleavage of tau : Linking amyloid and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(17), 10032-10037. <https://doi.org/10.1073/pnas.1630428100>

García, M. A., Gil, J., Ventoso, I., Guerra, S., Domingo, E., Rivas, C., & Esteban, M. (2006). Impact of protein kinase PKR in cell biology : From antiviral to antiproliferative action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 70(4), 1032-1060. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00027-06>

Garner, C. C., & Matus, A. (1988). Different forms of microtubule-associated protein 2 are encoded by separate mRNA transcripts. *The Journal of Cell Biology*, 106(3), 779-783. <https://doi.org/10.1083/jcb.106.3.779>

Gary, C., Lam, S., Hérard, A.-S., Koch, J. E., Petit, F., Gipchtein, P., Sawiak, S. J., Caillierez, R., Eddarkaoui, S., Colin, M., Aujard, F., Deslys, J.-P., Brouillet, E., Buée, L., Comoy, E. E., Pifferi, F., Picq, J.-L., & Dhenain, M. (2019). Encephalopathy induced by Alzheimer brain inoculation in a non-human primate. *Acta Neuropathologica Communications*, 7(1), 1-21. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0771-x>

Garza-Lombó, C., Pappa, A., Panayiotidis, M. I., Gonsebatt, M. E., & Franco, R. (2019). Arsenic-induced neurotoxicity : A mechanistic appraisal. *Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*, 24(8), 1305-1316. <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01740-8>

Gatz, M., Reynolds, C. A., Fratiglioni, L., Johansson, B., Mortimer, J. A., Berg, S., Fiske, A., & Pedersen, N. L. (2006). Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Archives of General Psychiatry*, 63(2), 168-174. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.2.168>

Giannakopoulos, P., Herrmann, F. R., Bussière, T., Bouras, C., Kövari, E., Perl, D. P., Morrison, J. H., Gold, G., & Hof, P. R. (2003). Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. *Neurology*, 60(9), 1495-1500. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000063311.58879.01>

Girardin, S. E., Cuziol, C., Philpott, D. J., & Arnoult, D. (2021). The eIF2 α kinase HRI in innate immunity, proteostasis, and mitochondrial stress. *The FEBS Journal*, 288(10), 3094-3107. <https://doi.org/10.1111/febs.15553>

Glenner, G. G., & Wong, C. W. (1984). Alzheimer's disease : Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 120(3), 885-890. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(84\)80190-4](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(84)80190-4)

Glenner, G. G., Wong, C. W., Quaranta, V., & Eanes, E. D. (1984). The amyloid deposits in Alzheimer's disease : Their nature and pathogenesis. *Applied Pathology*, 2(6), 357-369.

Godemann, R., Biernat, J., Mandelkow, E., & Mandelkow, E. M. (1999). Phosphorylation of tau protein by recombinant GSK-3 β : Pronounced phosphorylation at select Ser/Thr-Pro motifs but no phosphorylation at Ser262 in the repeat domain. *FEBS Letters*, 454(1-2), 157-164. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(99\)00741-3](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(99)00741-3)

Godet, A.-C., David, F., Hantelys, F., Tatin, F., Lacazette, E., Garmy-Susini, B., & Prats, A.-C. (2019). IRES Trans-Acting Factors, Key Actors of the Stress Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 924. <https://doi.org/10.3390/ijms20040924>

Goedert, M., & Jakes, R. (1990). Expression of separate isoforms of human tau protein : Correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization. *The EMBO Journal*, 9(13), 4225-4230. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb07870.x>

Goedert, M., Jakes, R., Crowther, R. A., Cohen, P., Vanmechelen, E., Vandermeeren, M., & Cras, P. (1994). Epitope mapping of monoclonal antibodies to the paired helical filaments of Alzheimer's disease : Identification of phosphorylation sites in tau protein. *The Biochemical Journal*, 301 (Pt 3)(Pt 3), 871-877. <https://doi.org/10.1042/bj3010871>

Goedert, M., Spillantini, M. G., & Crowther, R. A. (1992). Cloning of a big tau microtubule-associated protein characteristic of the peripheral nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(5), 1983-1987. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.5.1983>

Goedert, M., Spillantini, M. G., Jakes, R., Rutherford, D., & Crowther, R. A. (1989). Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau : Sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*, 3(4), 519-526. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90210-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90210-9)

Goedert, M., Wischik, C. M., Crowther, R. A., Walker, J. E., & Klug, A. (1988). Cloning and sequencing of the cDNA encoding a core protein of the paired helical filament of Alzheimer disease : Identification as the microtubule-associated protein tau. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(11), 4051-4055. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.11.4051>

Gonçalves, R. A., Wijesekara, N., Fraser, P. E., & De Felice, F. G. (2019). The Link Between Tau and Insulin Signaling : Implications for Alzheimer's Disease and Other Tauopathies. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13, 17. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00017>

Goode, B. L., Chau, M., Denis, P. E., & Feinstein, S. C. (2000). Structural and functional differences between 3-repeat and 4-repeat tau isoforms. Implications for normal tau function and the onset of neurodegenerative disease. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(49), 38182-38189. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007489200>

- Goode, B. L., Denis, P. E., Panda, D., Radeke, M. J., Miller, H. P., Wilson, L., & Feinstein, S. C. (1997). Functional interactions between the proline-rich and repeat regions of tau enhance microtubule binding and assembly. *Molecular Biology of the Cell*, 8(2), 353-365. <https://doi.org/10.1091/mbc.8.2.353>
- Goodson, H. V., & Jonasson, E. M. (2018). Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(6), a022608. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022608>
- Götz, J., Halliday, G., & Nisbet, R. M. (2019). Molecular Pathogenesis of the Tauopathies. *Annual Review of Pathology*, 14, 239-261. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012936>
- Goyama, S., Schibler, J., & Mulloy, J. C. (2019). Alternative translation initiation generates the N-terminal truncated form of RUNX1 that retains hematopoietic activity. *Experimental Hematology*, 72, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2019.01.008>
- Grande, G., Ljungman, P. L. S., Eneroth, K., Bellander, T., & Rizzuto, D. (2020). Association Between Cardiovascular Disease and Long-term Exposure to Air Pollution With the Risk of Dementia. *JAMA Neurology*, 77(7), 801-809. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.4914>
- Green, R., & Noller, H. F. (1997). Ribosomes and translation. *Annual Review of Biochemistry*, 66, 679-716. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.66.1.679>
- Greenfield, N. J., Montelione, G. T., Farid, R. S., & Hitchcock-DeGregori, S. E. (1998). The structure of the N-terminus of striated muscle alpha-tropomyosin in a chimeric peptide : Nuclear magnetic resonance structure and circular dichroism studies. *Biochemistry*, 37(21), 7834-7843. <https://doi.org/10.1021/bi973167m>
- Greenfield, N. J., Stafford, W. F., & Hitchcock-DeGregori, S. E. (1994). The effect of N-terminal acetylation on the structure of an N-terminal tropomyosin peptide and alpha alpha-tropomyosin. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, 3(3), 402-410. <https://doi.org/10.1002/pro.5560030304>
- Griffin, W. S., Sheng, J. G., Roberts, G. W., & Mrak, R. E. (1995). Interleukin-1 expression in different plaque types in Alzheimer's disease : Significance in plaque evolution. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 54(2), 276-281. <https://doi.org/10.1097/00005072-199503000-00014>
- Gu, J., Xu, W., Jin, N., Li, L., Zhou, Y., Chu, D., Gong, C.-X., Iqbal, K., & Liu, F. (2020). Truncation of Tau selectively facilitates its pathological activities. *Journal of Biological Chemistry*, 295(40), 13812-13828. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.012587>
- Gu, Y., Oyama, F., & Ihara, Y. (1996). Tau is widely expressed in rat tissues. *Journal of Neurochemistry*, 67(3), 1235-1244. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.67031235.x>
- Guedjald, S., Leghay, C., Derisbourg, M., Eddarkaoui, S., Lecerf, S., Vermon, F., Caillierez, R., Begard, S., Regost, C., Laloux, C., Costa, P. J. da, Carvalho, K., Chiappetta, G., Verdier, Y., Buée-Scherrer, V., Deramecourt, V., Schraen, S., Blum, D., Martin, F., ... Hamdane, M. (2025). *N-terminally acetylated Met11-Tau : A new pathological truncated Tau species with functional relevance in Alzheimer disease* (p. 2025.10.03.680200). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2025.10.03.680200>
- Guerreiro, R., Wojtas, A., Bras, J., Carrasquillo, M., Rogaeva, E., Majounie, E., Cruchaga, C., Sassi, C., Kauwe, J. S. K., Younkin, S., Hazrati, L., Collinge, J., Pocock, J., Lashley, T., Williams, J., Lambert, J. -C.,

Amouyel, P., Goate, A., Rademakers, R., ... Alzheimer Genetic Analysis Group. (2013). TREM2 variants in Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 368(2), 117-127. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211851>

Guidarelli, A., Fiorani, M., Cerioni, L., Scotti, M., & Cantoni, O. (2017). Arsenite induces DNA damage via mitochondrial ROS and induction of mitochondrial permeability transition. *BioFactors (Oxford, England)*, 43(5), 673-684. <https://doi.org/10.1002/biof.1375>

Guillozet-Bongaarts, A. L., Glajch, K. E., Libson, E. G., Cahill, M. E., Bigio, E., Berry, R. W., & Binder, L. I. (2007). Phosphorylation and cleavage of tau in non-AD tauopathies. *Acta Neuropathologica*, 113(5), 513-520. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0209-6>

Guo, J.-P., Arai, T., Miklossy, J., & McGeer, P. L. (2006). Abeta and tau form soluble complexes that may promote self aggregation of both into the insoluble forms observed in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(6), 1953-1958. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509386103>

Guo, T., Noble, W., & Hanger, D. P. (2017). Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathologica*, 133(5), 665-704. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1707-9>

H

Haimov, O., Sinvani, H., Martin, F., Ulitsky, I., Emmanuel, R., Tamarkin-Ben-Harush, A., Vardy, A., & Dikstein, R. (2017). Efficient and Accurate Translation Initiation Directed by TISU Involves RPS3 and RPS10e Binding and Differential Eukaryotic Initiation Factor 1A Regulation. *Molecular and Cellular Biology*, 37(15), e00150-17. <https://doi.org/10.1128/MCB.00150-17>

Halliday, M., Radford, H., Sekine, Y., Moreno, J., Verity, N., le Quesne, J., Otori, C. A., Barrett, D. A., Fromont, C., Fischer, P. M., Harding, H. P., Ron, D., & Mallucci, G. R. (2015). Partial restoration of protein synthesis rates by the small molecule ISRIB prevents neurodegeneration without pancreatic toxicity. *Cell Death & Disease*, 6(3), e1672-e1672. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.49>

Halliday, M., Radford, H., Zents, K. A. M., Molloy, C., Moreno, J. A., Verity, N. C., Smith, E., Otori, C. A., Barrett, D. A., Bushell, M., & Mallucci, G. R. (2017). Repurposed drugs targeting eIF2 α -P-mediated translational repression prevent neurodegeneration in mice. *Brain: A Journal of Neurology*, 140(6), 1768-1783. <https://doi.org/10.1093/brain/awx074>

Halpain, S., & Dehmelt, L. (2006). The MAP1 family of microtubule-associated proteins. *Genome Biology*, 7(6), 224. <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-6-224>

Hamdane, M., Sambo, A.-V., Delobel, P., Bégard, S., Violleau, A., Delacourte, A., Bertrand, P., Benavides, J., & Buée, L. (2003). Mitotic-like Tau Phosphorylation by p25-Cdk5 Kinase Complex*. *Journal of Biological Chemistry*, 278(36), 34026-34034. <https://doi.org/10.1074/jbc.M302872200>

Hampel, H., Vassar, R., De Strooper, B., Hardy, J., Willem, M., Singh, N., Zhou, J., Yan, R., Vanmechelen, E., De Vos, A., Nisticò, R., Corbo, M., Imbimbo, B. P., Streffer, J., Voytyuk, I., Timmers, M., Tahami Monfared, A. A., Irizarry, M., Albala, B., ... Vergallo, A. (2021). The β -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease. *Biological Psychiatry*, 89(8), 745-756. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.02.001>

Hanger, D. P., Anderton, B. H., & Noble, W. (2009). Tau phosphorylation : The therapeutic challenge for neurodegenerative disease. *Trends in Molecular Medicine*, 15(3), 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2009.01.003>

Hanger, D. P., & Wray, S. (2010). Tau cleavage and tau aggregation in neurodegenerative disease. *Biochemical Society Transactions*, 38(4), 1016-1020. <https://doi.org/10.1042/BST0381016>

Hannan, A. J. (2014). Environmental enrichment and brain repair : Harnessing the therapeutic effects of cognitive stimulation and physical activity to enhance experience-dependent plasticity. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 40(1), 13-25. <https://doi.org/10.1111/nan.12102>

Harding, H. P., Zhang, Y., Zeng, H., Novoa, I., Lu, P. D., Calton, M., Sadri, N., Yun, C., Popko, B., Paules, R., Stojdl, D. F., Bell, J. C., Hettmann, T., Leiden, J. M., & Ron, D. (2003). An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Molecular Cell*, 11(3), 619-633. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(03\)00105-9](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(03)00105-9)

Hardy, J. A., & Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease : The amyloid cascade hypothesis. *Science (New York, N.Y.)*, 256(5054), 184-185. <https://doi.org/10.1126/science.1566067>

Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2002). The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease : Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science*, 297(5580), 353-356. <https://doi.org/10.1126/science.1072994>

Harper, K. N., Liu, X., Hall, M. N., Ilievski, V., Oka, J., Calancie, L., Slavkovich, V., Levy, D., Siddique, A., Alam, S., Mey, J. L., van Geen, A., Graziano, J. H., & Gamble, M. V. (2014). A dose-response study of arsenic exposure and markers of oxidative damage in Bangladesh. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 56(6), 652-658. <https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000000166>

Harvey, R. F., Smith, T. S., Mulrone, T., Queiroz, R. M. L., Pizzinga, M., Dezi, V., Villeneuve, E., Ramakrishna, M., Lilley, K. S., & Willis, A. E. (2018). Trans-acting translational regulatory RNA binding proteins. *Wiley Interdisciplinary Reviews. RNA*, 9(3), e1465. <https://doi.org/10.1002/wrna.1465>

Heneka, M. T., van der Flier, W. M., Jessen, F., Hoozemans, J., Thal, D. R., Boche, D., Brosse, F., Teunissen, C., Zetterberg, H., Jacobs, A. H., Edison, P., Ramirez, A., Cruchaga, C., Lambert, J.-C., Laza, A. R., Sanchez-Mut, J. V., Fischer, A., Castro-Gomez, S., Stein, T. D., ... Riechers, S.-P. (2025). Neuroinflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews Immunology*, 25(5), 321-352. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01104-7>

Henriksen, K., Wang, Y., Sørensen, M. G., Barascuk, N., Suhy, J., Pedersen, J. T., Duffin, K. L., Dean, R. A., Pajak, M., Christiansen, C., Zheng, Q., & Karsdal, M. A. (2013). An enzyme-generated fragment of tau measured in serum shows an inverse correlation to cognitive function. *PloS One*, 8(5), e64990. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064990>

Himmler, A. (1989). Structure of the bovine tau gene : Alternatively spliced transcripts generate a protein family. *Molecular and Cellular Biology*, 9(4), 1389-1396. <https://doi.org/10.1128/mcb.9.4.1389-1396.1989>

Hippius, H., & Neundörfer, G. (2003). The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 5(1), 101-108. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2003.5.1/hippius>

Ho, L., Qin, W., Pompl, P. N., Xiang, Z., Wang, J., Zhao, Z., Peng, Y., Cambareri, G., Rocher, A., Mobbs, C. V., Hof, P. R., & Pasinetti, G. M. (2004). Diet-induced insulin resistance promotes amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB Journal: Official Publication of the*

Federation of American Societies for Experimental Biology, 18(7), 902-904.
<https://doi.org/10.1096/fj.03-0978fje>

Ho, Y.-S., Yang, X., Lau, J. C.-F., Hung, C. H.-L., Wuwongse, S., Zhang, Q., Wang, J., Baum, L., So, K.-F., & Chang, R. C.-C. (2012). Endoplasmic reticulum stress induces tau pathology and forms a vicious cycle : Implication in Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 28(4), 839-854. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111037>

Hofmann, I., & Munro, S. (2006). An N-terminally acetylated Arf-like GTPase is localised to lysosomes and affects their motility. *Journal of Cell Science*, 119(Pt 8), 1494-1503.
<https://doi.org/10.1242/jcs.02958>

Holmes, W. M., Mannakee, B. K., Gutenkunst, R. N., & Serio, T. R. (2014). Loss of amino-terminal acetylation suppresses a prion phenotype by modulating global protein folding. *Nature Communications*, 5, 4383. <https://doi.org/10.1038/ncomms5383>

Hooper, C., Killick, R., & Lovestone, S. (2008). The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 104(6), 1433-1439. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05194.x>

Hoozemans, J. J. M., van Haastert, E. S., Eikelenboom, P., de Vos, R. a. I., Rozemuller, J. M., & Scheper, W. (2007). Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 354(3), 707-711.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.01.043>

Horowitz, P. M., Patterson, K. R., Guillozet-Bongaarts, A. L., Reynolds, M. R., Carroll, C. A., Weintraub, S. T., Bennett, D. A., Cryns, V. L., Berry, R. W., & Binder, L. I. (2004). Early N-terminal changes and caspase-6 cleavage of tau in Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(36), 7895-7902. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1988-04.2004>

Huin, V., Buée, L., Behal, H., Labreuche, J., Sablonnière, B., & Dhaenens, C.-M. (2017). Alternative promoter usage generates novel shorter MAPT mRNA transcripts in Alzheimer's disease and progressive supranuclear palsy brains. *Scientific Reports*, 7(1), 12589. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12955-7>

Hutton, M. (2001). Missense and splice site mutations in tau associated with FTDP-17 : Multiple pathogenic mechanisms. *Neurology*, 56(11 Suppl 4), S21-25.
https://doi.org/10.1212/wnl.56.suppl_4.s21

I

Ikegami, S., Harada, A., & Hirokawa, N. (2000). Muscle weakness, hyperactivity, and impairment in fear conditioning in tau-deficient mice. *Neuroscience Letters*, 279(3), 129-132.
[https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(99\)00964-7](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(99)00964-7)

Ilieva, E. V., Ayala, V., Jové, M., Dalfó, E., Cacabelos, D., Povedano, M., Bellmunt, M. J., Ferrer, I., Pamplona, R., & Portero-Otín, M. (2007). Oxidative and endoplasmic reticulum stress interplay in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Brain: A Journal of Neurology*, 130(Pt 12), 3111-3123.
<https://doi.org/10.1093/brain/awm190>

Iqbal, K., Liu, F., & Gong, C.-X. (2016). Tau and neurodegenerative disease : The story so far. *Nature Reviews. Neurology*, 12(1), 15-27. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.225>

Ittner, A., Chua, S. W., Bertz, J., Volkerling, A., van der Hoven, J., Gladbach, A., Przybyla, M., Bi, M., van Hummel, A., Stevens, C. H., Ippati, S., Suh, L. S., Macmillan, A., Sutherland, G., Kril, J. J., Silva, A. P. G., Mackay, J. P., Poljak, A., Delerue, F., ... Ittner, L. M. (2016). Site-specific phosphorylation of tau inhibits amyloid- β toxicity in Alzheimer's mice. *Science (New York, N.Y.)*, 354(6314), 904-908. <https://doi.org/10.1126/science.aah6205>

Ittner, L. M., Ke, Y. D., Delerue, F., Bi, M., Gladbach, A., van Eersel, J., Wölfling, H., Chieng, B. C., Christie, M. J., Napier, I. A., Eckert, A., Staufenbiel, M., Hardeman, E., & Götz, J. (2010). Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell*, 142(3), 387-397. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.036>

J

Jack, C. R., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Shaw, L. M., Aisen, P. S., Weiner, M. W., Petersen, R. C., & Trojanowski, J. Q. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet. Neurology*, 9(1), 119-128. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70299-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70299-6)

Jackson, N. A., Guerrero-Muñoz, M. J., & Castillo-Carranza, D. L. (2022). The prion-like transmission of tau oligomers via exosomes. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 974414. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.974414>

Jadhav, S., Katina, S., Kovac, A., Kazmerova, Z., Novak, M., & Zilka, N. (2015). Truncated tau deregulates synaptic markers in rat model for human tauopathy. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9, 24. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00024>

James, C. C., & Smyth, J. W. (2018). Alternative mechanisms of translation initiation: An emerging dynamic regulator of the proteome in health and disease. *Life Sciences*, 212, 138-144. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.09.054>

Janelidze, S., Mattsson, N., Palmqvist, S., Smith, R., Beach, T. G., Serrano, G. E., Chai, X., Proctor, N. K., Eichenlaub, U., Zetterberg, H., Blennow, K., Reiman, E. M., Stomrud, E., Dage, J. L., & Hansson, O. (2020). Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: Relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia. *Nature Medicine*, 26(3), 379-386. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0755-1>

Jeganathan, S., von Bergen, M., Bruchl, H., Steinhoff, H.-J., & Mandelkow, E. (2006). Global hairpin folding of tau in solution. *Biochemistry*, 45(7), 2283-2293. <https://doi.org/10.1021/bi0521543>

Jicha, G. A., Bowser, R., Kazam, I. G., & Davies, P. (1997). Alz-50 and MC-1, a new monoclonal antibody raised to paired helical filaments, recognize conformational epitopes on recombinant tau. *Journal of Neuroscience Research*, 48(2), 128-132. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4547\(19970415\)48:2%253C128::aid-jnr5%253E3.0.co;2-e](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4547(19970415)48:2%253C128::aid-jnr5%253E3.0.co;2-e)

Jing, J., Zheng, G., Liu, M., Shen, X., Zhao, F., Wang, J., Zhang, J., Huang, G., Dai, P., Chen, Y., Chen, J., & Luo, W. (2012). Changes in the synaptic structure of hippocampal neurons and impairment of spatial memory in a rat model caused by chronic arsenite exposure. *NeuroToxicology*, 33(5), 1230-1238. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.07.003>

Jouanne, M., Rault, S., & Voisin-Chiret, A.-S. (2017). Tau protein aggregation in Alzheimer's disease: An attractive target for the development of novel therapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 139, 153-167. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.070>

K

- Kadavath, H., Cabrales Fontela, Y., Jaremko, M., Jaremko, Ł., Overkamp, K., Biernat, J., Mandelkow, E., & Zweckstetter, M. (2018). The Binding Mode of a Tau Peptide with Tubulin. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 57(12), 3246-3250. <https://doi.org/10.1002/anie.201712089>
- Karch, C. M., Jeng, A. T., Nowotny, P., Cady, J., Cruchaga, C., & Goate, A. M. (2012). Expression of novel Alzheimer's disease risk genes in control and Alzheimer's disease brains. *PloS One*, 7(11), e50976. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050976>
- Kasai, S., Yamazaki, H., Tanji, K., Engler, M. J., Matsumiya, T., & Itoh, K. (2019). Role of the ISR-ATF4 pathway and its cross talk with Nrf2 in mitochondrial quality control. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 64(1), 1-12. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.18-37>
- Katayama, T., Imaizumi, K., Manabe, T., Hitomi, J., Kudo, T., & Tohyama, M. (2004). Induction of neuronal death by ER stress in Alzheimer's disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 28(1-2), 67-78. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2003.12.004>
- Kempf, M., Clement, A., Faissner, A., Lee, G., & Brandt, R. (1996). Tau binds to the distal axon early in development of polarity in a microtubule- and microfilament-dependent manner. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(18), 5583-5592. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-18-05583.1996>
- Khan, S., Barve, K. H., & Kumar, M. S. (2020). Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology*, 18(11), 1106-1125. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200528142429>
- Kim, Y., Choi, H., Lee, W., Park, H., Kam, T.-I., Hong, S.-H., Nah, J., Jung, S., Shin, B., Lee, H., Choi, T.-Y., Choo, H., Kim, K.-K., Choi, S.-Y., Kaye, R., & Jung, Y.-K. (2016). Caspase-cleaved tau exhibits rapid memory impairment associated with tau oligomers in a transgenic mouse model. *Neurobiology of Disease*, 87, 19-28. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.12.006>
- Kimura, T., Ishiguro, K., & Hisanaga, S.-I. (2014). Physiological and pathological phosphorylation of tau by Cdk5. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 7, 65. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2014.00065>
- Kimura, T., Ono, T., Takamatsu, J., Yamamoto, H., Ikegami, K., Kondo, A., Hasegawa, M., Ihara, Y., Miyamoto, E., & Miyakawa, T. (1996). Sequential changes of tau-site-specific phosphorylation during development of paired helical filaments. *Dementia (Basel, Switzerland)*, 7(4), 177-181. <https://doi.org/10.1159/000106875>
- Kimura, T., Whitcomb, D. J., Jo, J., Regan, P., Piers, T., Heo, S., Brown, C., Hashikawa, T., Murayama, M., Seok, H., Sotiropoulos, I., Kim, E., Collingridge, G. L., Takashima, A., & Cho, K. (2014). Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 369(1633), 20130144. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0144>
- Kozak, M. (1986). Point mutations define a sequence flanking the AUG initiator codon that modulates translation by eukaryotic ribosomes. *Cell*, 44(2), 283-292. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90762-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90762-2)

Kozak, M. (1987). At least six nucleotides preceding the AUG initiator codon enhance translation in mammalian cells. *Journal of Molecular Biology*, 196(4), 947-950. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(87\)90418-9](https://doi.org/10.1016/0022-2836(87)90418-9)

Kozak, M. (1991). An analysis of vertebrate mRNA sequences : Intimations of translational control. *The Journal of Cell Biology*, 115(4), 887-903. <https://doi.org/10.1083/jcb.115.4.887>

Krukowski, K., Nolan, A., Frias, E. S., Boone, M., Ureta, G., Grue, K., Paladini, M.-S., Elizarraras, E., Delgado, L., Bernales, S., Walter, P., & Rosi, S. (2020). Small molecule cognitive enhancer reverses age-related memory decline in mice. *eLife*, 9, e62048. <https://doi.org/10.7554/eLife.62048>

Kwon, H., Jang, D., Choi, M., Lee, J., Jeong, K., & Pak, Y. (2018). Alternative translation initiation of Caveolin-2 desensitizes insulin signaling through dephosphorylation of insulin receptor by PTP1B and causes insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1864(6), 2169-2182. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.03.022>

L

Lagomarsino, V. N., Pearse, R. V., Liu, L., Hsieh, Y.-C., Fernandez, M. A., Vinton, E. A., Paull, D., Felsky, D., Tasaki, S., Gaiteri, C., Vardarajan, B., Lee, H., Muratore, C. R., Benoit, C. R., Chou, V., Fancher, S. B., He, A., Merchant, J. P., Duong, D. M., ... Young-Pearse, T. L. (2021). Stem cell-derived neurons reflect features of protein networks, neuropathology, and cognitive outcome of their aged human donors. *Neuron*, 109(21), 3402-3420.e9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.08.003>

Lambert, J. C., Ibrahim-Verbaas, C. A., Harold, D., Naj, A. C., Sims, R., Bellenguez, C., DeStafano, A. L., Bis, J. C., Beecham, G. W., Grenier-Boley, B., Russo, G., Thorton-Wells, T. A., Jones, N., Smith, A. V., Chouraki, V., Thomas, C., Ikram, M. A., Zelenika, D., Vardarajan, B. N., ... Amouyel, P. (2013). Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 45(12), 1452-1458. <https://doi.org/10.1038/ng.2802>

Lañcôt, K. L., Amatniek, J., Ancoli-Israel, S., Arnold, S. E., Ballard, C., Cohen-Mansfield, J., Ismail, Z., Lyketsos, C., Miller, D. S., Musiek, E., Osorio, R. S., Rosenberg, P. B., Satlin, A., Steffens, D., Tariot, P., Bain, L. J., Carrillo, M. C., Hendrix, J. A., Jurgens, H., & Boot, B. (2017). Neuropsychiatric signs and symptoms of Alzheimer's disease : New treatment paradigms. *Alzheimer's & Dementia (New York, N. Y.)*, 3(3), 440-449. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2017.07.001>

Laurent, C., Dorothée, G., Hunot, S., Martin, E., Monnet, Y., Duchamp, M., Dong, Y., Légeron, F.-P., Leboucher, A., Burnouf, S., Faivre, E., Carvalho, K., Caillierez, R., Zommer, N., Demeyer, D., Jouy, N., Sazdovitch, V., Schraen-Maschke, S., Delarasse, C., ... Blum, D. (2017). Hippocampal T cell infiltration promotes neuroinflammation and cognitive decline in a mouse model of tauopathy. *Brain: A Journal of Neurology*, 140(1), 184-200. <https://doi.org/10.1093/brain/aww270>

Lazarov, O., Robinson, J., Tang, Y.-P., Hairston, I. S., Korade-Mirnic, Z., Lee, V. M.-Y., Hersh, L. B., Sapolsky, R. M., Mirnic, K., & Sisodia, S. S. (2005). Environmental enrichment reduces Abeta levels and amyloid deposition in transgenic mice. *Cell*, 120(5), 701-713. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.01.015>

Lee, D. Y., Lee, K.-S., Lee, H. J., Kim, D. H., Noh, Y. H., Yu, K., Jung, H.-Y., Lee, S. H., Lee, J. Y., Youn, Y. C., Jeong, Y., Kim, D. K., Lee, W. B., & Kim, S. S. (2010). Activation of PERK signaling attenuates Abeta-mediated ER stress. *PLoS One*, 5(5), e10489. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010489>

- Lee, Y.-Y., Cevallos, R. C., & Jan, E. (2009). An upstream open reading frame regulates translation of GADD34 during cellular stresses that induce eIF2 α phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(11), 6661-6673. <https://doi.org/10.1074/jbc.M806735200>
- LeFebvre, A. K., Korneeva, N. L., Trutschl, M., Cvek, U., Duzan, R. D., Bradley, C. A., Hershey, J. W. B., & Rhoads, R. E. (2006). Translation initiation factor eIF4G-1 binds to eIF3 through the eIF3e subunit. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(32), 22917-22932. <https://doi.org/10.1074/jbc.M605418200>
- Leroy, K., Bretteville, A., Schindowski, K., Gilissen, E., Authélet, M., De Decker, R., Yilmaz, Z., Buée, L., & Brion, J.-P. (2007). Early Axonopathy Preceding Neurofibrillary Tangles in Mutant Tau Transgenic Mice. *The American Journal of Pathology*, 171(3), 976-992. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.070345>
- Leroy, K., Yilmaz, Z., & Brion, J.-P. (2007). Increased level of active GSK-3 β in Alzheimer's disease and accumulation in argyrophilic grains and in neurones at different stages of neurofibrillary degeneration. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 33(1), 43-55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2006.00795.x>
- Lewis, S. A., Wang, D. H., & Cowan, N. J. (1988). Microtubule-associated protein MAP2 shares a microtubule binding motif with tau protein. *Science (New York, N.Y.)*, 242(4880), 936-939. <https://doi.org/10.1126/science.3142041>
- Li, G., Scull, C., Ozcan, L., & Tabas, I. (2010). NADPH oxidase links endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, and PKR activation to induce apoptosis. *The Journal of Cell Biology*, 191(6), 1113-1125. <https://doi.org/10.1083/jcb.201006121>
- Liew, A. K. Y., Teo, C. H., & Soga, T. (2022). The Molecular Effects of Environmental Enrichment on Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 59(12), 7095-7118. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-03016-w>
- Lissner, L. J., Wartchow, K. M., Toniazzo, A. P., Gonçalves, C.-A., & Rodrigues, L. (2021). Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats : A reflection based on the literature and experience. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 210, 173273. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173273>
- Liu, C., & Götz, J. (2013). Profiling murine tau with ON, 1N and 2N isoform-specific antibodies in brain and peripheral organs reveals distinct subcellular localization, with the 1N isoform being enriched in the nucleus. *PloS One*, 8(12), e84849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084849>
- Liu, F., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., & Gong, C.-X. (2005). Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *The European Journal of Neuroscience*, 22(8), 1942-1950. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04391.x>
- Liu, P., & Ashe, K. H. (2021). The molecular implications of a caspase-2-mediated site-specific tau cleavage in tauopathies. *Neural Regeneration Research*, 16(9), 1774-1775. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.306073>
- Loomis, P. A., Howard, T. H., Castleberry, R. P., & Binder, L. I. (1990). Identification of nuclear tau isoforms in human neuroblastoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(21), 8422-8426. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.21.8422>

LoPresti, P., Szuchet, S., Papasozomenos, S. C., Zinkowski, R. P., & Binder, L. I. (1995). Functional implications for the microtubule-associated protein tau : Localization in oligodendrocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(22), 10369-10373. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.22.10369>

Lotharius, J., Barg, S., Wiekop, P., Lundberg, C., Raymon, H. K., & Brundin, P. (2002a). Effect of mutant alpha-synuclein on dopamine homeostasis in a new human mesencephalic cell line. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(41), 38884-38894. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205518200>

Lotharius, J., Barg, S., Wiekop, P., Lundberg, C., Raymon, H. K., & Brundin, P. (2002b). Effect of Mutant α -Synuclein on Dopamine Homeostasis in a New Human Mesencephalic Cell Line*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(41), 38884-38894. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205518200>

Lotharius, J., Falsig, J., van Beek, J., Payne, S., Dringen, R., Brundin, P., & Leist, M. (2005). Progressive Degeneration of Human Mesencephalic Neuron-Derived Cells Triggered by Dopamine-Dependent Oxidative Stress Is Dependent on the Mixed-Lineage Kinase Pathway. *The Journal of Neuroscience*, 25(27), 6329-6342. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1746-05.2005>

Lucas, J. J., Hernández, F., Gómez-Ramos, P., Morán, M. A., Hen, R., & Avila, J. (2001). Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice. *The EMBO Journal*, 20(1-2), 27-39. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.1.27>

Luna-Viramontes, N. I., Campa-Córdoba, B. B., Ontiveros-Torres, M. Á., Harrington, C. R., Villanueva-Fierro, I., Guadarrama-Ortíz, P., Garcés-Ramírez, L., de la Cruz, F., Hernandez-Alejandro, M., Martínez-Robles, S., González-Ballesteros, E., Pacheco-Herrero, M., & Luna-Muñoz, J. (2020). PHF-Core Tau as the Potential Initiating Event for Tau Pathology in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 247. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00247>

Luo, J., Qiu, Z., Zhang, L., & Shu, W. (2012). Arsenite exposure altered the expression of NMDA receptor and postsynaptic signaling proteins in rat hippocampus. *Toxicology Letters*, 211(1), 39-44. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.02.021>

Luo, M.-H., Tse, S.-W., Memmott, J., & Andreadis, A. (2004). Novel isoforms of tau that lack the microtubule-binding domain. *Journal of Neurochemistry*, 90(2), 340-351. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02508.x>

M

Ma, T., Trinh, M. A., Wexler, A. J., Bourbon, C., Gatti, E., Pierre, P., Cavener, D. R., & Klann, E. (2013). Suppression of eIF2 α kinases alleviates Alzheimer's disease-related plasticity and memory deficits. *Nature Neuroscience*, 16(9), 1299-1305. <https://doi.org/10.1038/nn.3486>

Magnani, E., Fan, J., Gasparini, L., Golding, M., Williams, M., Schiavo, G., Goedert, M., Amos, L. A., & Spillantini, M. G. (2007). Interaction of tau protein with the dynactin complex. *The EMBO Journal*, 26(21), 4546-4554. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601878>

Mailliot, C., Bussi re, T., Hamdane, M., Sergeant, N., Caillet, M.-L., Delacourte, A., & Bu e, L. (2000). Pathological Tau Phenotypes : The Weight of Mutations, Polymorphisms, and Differential Neuronal Vulnerabilities. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 920(1), 107-114. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06911.x>

Mandelkow, E.-M., & Mandelkow, E. (2012). Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(7), a006247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006247>

Mansuroglu, Z., Benhelli-Mokrani, H., Marcato, V., Sultan, A., Violet, M., Chauderlier, A., Delattre, L., Loyens, A., Talahari, S., Bégard, S., Nessler, F., Colin, M., Souès, S., Lefebvre, B., Buée, L., Galas, M.-C., & Bonnefoy, E. (2016). Loss of Tau protein affects the structure, transcription and repair of neuronal pericentromeric heterochromatin. *Scientific Reports*, 6, 33047. <https://doi.org/10.1038/srep33047>

Marciniak, E., Leboucher, A., Caron, E., Ahmed, T., Tailleux, A., Dumont, J., Issad, T., Gerhardt, E., Pagesy, P., Vilen, M., Bournonville, C., Hamdane, M., Bantubungi, K., Lancel, S., Demeyer, D., Eddarkaoui, S., Vallez, E., Vieau, D., Humez, S., ... Blum, D. (2017). Tau deletion promotes brain insulin resistance. *The Journal of Experimental Medicine*, 214(8), 2257-2269. <https://doi.org/10.1084/jem.20161731>

Margolis, R. L., & Wilson, L. (1978). Opposite end assembly and disassembly of microtubules at steady state in vitro. *Cell*, 13(1), 1-8. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(78\)90132-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(78)90132-0)

Martin, L., Latypova, X., & Terro, F. (2011). Post-translational modifications of tau protein : Implications for Alzheimer's disease. *Neurochemistry International*, 58(4), 458-471. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.023>

Martin, L., Latypova, X., Wilson, C. M., Magnaudeix, A., Perrin, M.-L., Yardin, C., & Terro, F. (2013). Tau protein kinases : Involvement in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, 12(1), 289-309. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.06.003>

Maurer, K., Volk, S., & Gerbaldo, H. (1997). Auguste D and Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, 349(9064), 1546-1549. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)10203-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)10203-8)

McEwen, E., Kedersha, N., Song, B., Scheuner, D., Gilks, N., Han, A., Chen, J.-J., Anderson, P., & Kaufman, R. J. (2005). Heme-regulated Inhibitor Kinase-mediated Phosphorylation of Eukaryotic Translation Initiation Factor 2 Inhibits Translation, Induces Stress Granule Formation, and Mediates Survival upon Arsenite Exposure*. *Journal of Biological Chemistry*, 280(17), 16925-16933. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412882200>

McIlwain, D. R., Berger, T., & Mak, T. W. (2015). Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(4), a026716. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026716>

McTiernan, N., Kjosås, I., & Arnesen, T. (2025). Illuminating the impact of N-terminal acetylation : From protein to physiology. *Nature Communications*, 16(1), 703. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-55960-5>

Medda, N., Patra, R., Ghosh, T. K., & Maiti, S. (2020). Neurotoxic Mechanism of Arsenic : Synergistic Effect of Mitochondrial Instability, Oxidative Stress, and Hormonal-Neurotransmitter Impairment. *Biological Trace Element Research*, 198(1), 8-15. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02044-8>

Mercado, G., Castillo, V., Soto, P., López, N., Axten, J. M., Sardi, S. P., Hoozemans, J. J. M., & Hetz, C. (2018). Targeting PERK signaling with the small molecule GSK2606414 prevents neurodegeneration in a model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, 112, 136-148. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.01.004>

- Meredith, J. E., Sankaranarayanan, S., Guss, V., Lanzetti, A. J., Berisha, F., Neely, R. J., Slemmon, J. R., Portelius, E., Zetterberg, H., Blennow, K., Soares, H., Ahljanian, M., & Albright, C. F. (2013). Characterization of novel CSF Tau and ptau biomarkers for Alzheimer's disease. *PloS One*, 8(10), e76523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076523>
- Mietelska-Porowska, A., Wasik, U., Goras, M., Filipek, A., & Niewiadomska, G. (2014). Tau protein modifications and interactions : Their role in function and dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(3), 4671-4713. <https://doi.org/10.3390/ijms15034671>
- Migliaccio, R., Agosta, F., Possin, K. L., Canu, E., Filippi, M., Rabinovici, G. D., Rosen, H. J., Miller, B. L., & Gorno-Tempini, M. L. (2015). Mapping the Progression of Atrophy in Early- and Late-Onset Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 46(2), 351-364. <https://doi.org/10.3233/JAD-142292>
- Mitchison, T., & Kirschner, M. (1984). Dynamic instability of microtubule growth. *Nature*, 312(5991), 237-242. <https://doi.org/10.1038/312237a0>
- Moldoveanu, T., Hosfield, C. M., Lim, D., Elce, J. S., Jia, Z., & Davies, P. L. (2002). A Ca(2+) switch aligns the active site of calpain. *Cell*, 108(5), 649-660. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00659-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00659-1)
- Mondragón-Rodríguez, S., Mena, R., Binder, L. I., Smith, M. A., Perry, G., & García-Sierra, F. (2008). Conformational changes and cleavage of tau in Pick bodies parallel the early processing of tau found in Alzheimer pathology. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 34(1), 62-75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2007.00853.x>
- Mondragón-Rodríguez, S., Trillaud-Doppia, E., Dudilot, A., Bourgeois, C., Lauzon, M., Leclerc, N., & Boehm, J. (2012). Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by N-methyl-D-aspartate receptor-dependent tau phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(38), 32040-32053. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.401240>
- Montalto, G., & Ricciarelli, R. (2023). Tau, tau kinases, and tauopathies : An updated overview. *BioFactors (Oxford, England)*, 49(3), 502-511. <https://doi.org/10.1002/biof.1930>
- Moon, S. L., Sonenberg, N., & Parker, R. (2018). Neuronal Regulation of eIF2α Function in Health and Neurological Disorders. *Trends in Molecular Medicine*, 24(6), 575-589. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.04.001>
- Moonen, S., Koper, M. J., Van Schoor, E., Schaefferbeke, J. M., Vandenberghe, R., von Arnim, C. A. F., Tousseyn, T., De Strooper, B., & Thal, D. R. (2023). Pyroptosis in Alzheimer's disease : Cell type-specific activation in microglia, astrocytes and neurons. *Acta Neuropathologica*, 145(2), 175-195. <https://doi.org/10.1007/s00401-022-02528-y>
- Mudher, A., Colin, M., Dujardin, S., Medina, M., Dewachter, I., Alavi Naini, S. M., Mandelkow, E. - M., Mandelkow, E., Buée, L., Goedert, M., & Brion, J.-P. (2017). What is the evidence that tau pathology spreads through prion-like propagation? *Acta Neuropathologica Communications*, 5(1), 99. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0488-7>
- Mukrasch, M. D., Bibow, S., Korukottu, J., Jeganathan, S., Biernat, J., Griesinger, C., Mandelkow, E., & Zweckstetter, M. (2009). Structural polymorphism of 441-residue tau at single residue resolution. *PLoS Biology*, 7(2), e34. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000034>

Mukrasch, M. D., Biernat, J., von Bergen, M., Griesinger, C., Mandelkow, E., & Zweckstetter, M. (2005). Sites of tau important for aggregation populate {beta}-structure and bind to microtubules and polyanions. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(26), 24978-24986. <https://doi.org/10.1074/jbc.M501565200>

Munoz, L., & Ammit, A. J. (2010). Targeting p38 MAPK pathway for the treatment of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 58(3), 561-568. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.11.010>

N

Nakamura, T., Kunz, R. C., Zhang, C., Kimura, T., Yuan, C. L., Baccaro, B., Namiki, Y., Gygi, S. P., & Hotamisligil, G. S. (2015). A critical role for PKR complexes with TRBP in Immunometabolic regulation and eIF2 α phosphorylation in obesity. *Cell Reports*, 11(2), 295-307. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.03.021>

Napoli, I., Mercaldo, V., Boyl, P. P., Eleuteri, B., Zalfa, F., De Rubeis, S., Di Marino, D., Mohr, E., Massimi, M., Falconi, M., Witke, W., Costa-Mattioli, M., Sonenberg, N., Achsel, T., & Bagni, C. (2008). The fragile X syndrome protein represses activity-dependent translation through CYFIP1, a new 4E-BP. *Cell*, 134(6), 1042-1054. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.031>

Neill, G., & Masson, G. R. (2023). A stay of execution : ATF4 regulation and potential outcomes for the integrated stress response. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 16, 1112253. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1112253>

Neve, R. L., Harris, P., Kosik, K. S., Kurnit, D. M., & Donlon, T. A. (1986). Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Molecular Brain Research*, 1(3), 271-280. [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(86\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0169-328X(86)90033-1)

Niño, S. A., Vázquez-Hernández, N., Arevalo-Villalobos, J., Chi-Ahumada, E., Martín-Amaya-Barajas, F. L., Díaz-Cintra, S., Martel-Gallegos, G., González-Burgos, I., & Jiménez-Capdeville, M. E. (2021). Cortical Synaptic Reorganization Under Chronic Arsenic Exposure. *Neurotoxicity Research*, 39(6), 1970-1980. <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00409-y>

Nirschl, J. J., Ghiretti, A. E., & Holzbaur, E. L. F. (2017). The impact of cytoskeletal organization on the local regulation of neuronal transport. *Nature reviews. Neuroscience*, 18(10), 585-597. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.100>

Nithianantharajah, J., & Hannan, A. J. (2006). Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7(9), 697-709. <https://doi.org/10.1038/nrn1970>

Nordström, A., & Nordström, P. (2018). Traumatic brain injury and the risk of dementia diagnosis : A nationwide cohort study. *PLoS Medicine*, 15(1), e1002496. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002496>

Novak, M., Kabat, J., & Wischik, C. M. (1993). Molecular characterization of the minimal protease resistant tau unit of the Alzheimer's disease paired helical filament. *The EMBO Journal*, 12(1), 365-370. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1993.tb05665.x>

Novak, P., Cehlar, O., Skrabana, R., & Novak, M. (2018). Tau Conformation as a Target for Disease-Modifying Therapy: The Role of Truncation. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 64(s1), S535-S546. <https://doi.org/10.3233/JAD-179942>

Novoa, I., Zeng, H., Harding, H. P., & Ron, D. (2001). Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of eIF2alpha. *The Journal of Cell Biology*, 153(5), 1011-1022. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.5.1011>

O

Oakley, H., Cole, S. L., Logan, S., Maus, E., Shao, P., Craft, J., Guillozet-Bongaarts, A., Ohno, M., Disterhoft, J., Van Eldik, L., Berry, R., & Vassar, R. (2006). Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: Potential factors in amyloid plaque formation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(40), 10129-10140. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1202-06.2006>

O'Brien, R. J., & Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annual Review of Neuroscience*, 34, 185-204. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113613>

Ozcelik, S., Sprenger, F., Skachokova, Z., Fraser, G., Abramowski, D., Clavaguera, F., Probst, A., Frank, S., Müller, M., Staufenbiel, M., Goedert, M., Tolnay, M., & Winkler, D. T. (2016). Co-expression of truncated and full-length tau induces severe neurotoxicity. *Molecular Psychiatry*, 21(12), 1790-1798. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.228>

P

Pais, M. V., Forlenza, O. V., & Diniz, B. S. (2023). Plasma Biomarkers of Alzheimer's Disease: A Review of Available Assays, Recent Developments, and Implications for Clinical Practice. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 7(1), 355-380. <https://doi.org/10.3233/ADR-230029>

Pallas-Bazarra, N., Jurado-Arjona, J., Navarrete, M., Esteban, J. A., Hernández, F., Ávila, J., & Llorens-Martín, M. (2016). Novel function of Tau in regulating the effects of external stimuli on adult hippocampal neurogenesis. *The EMBO Journal*, 35(13), 1417-1436. <https://doi.org/10.15252/embj.201593518>

Panda, D., Samuel, J. C., Massie, M., Feinstein, S. C., & Wilson, L. (2003). Differential regulation of microtubule dynamics by three- and four-repeat tau: Implications for the onset of neurodegenerative disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(16), 9548-9553. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633508100>

Park, S.-Y., & Ferreira, A. (2005). The generation of a 17 kDa neurotoxic fragment: An alternative mechanism by which tau mediates beta-amyloid-induced neurodegeneration. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(22), 5365-5375. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1125-05.2005>

Patrick, G. N., Zukerberg, L., Nikolic, M., de la Monte, S., Dikkes, P., & Tsai, L. H. (1999). Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature*, 402(6762), 615-622. <https://doi.org/10.1038/45159>

Peacock, M. L., Warren, J. T., Roses, A. D., & Fink, J. K. (1993). Novel polymorphism in the A4 region of the amyloid precursor protein gene in a patient without Alzheimer's disease. *Neurology*, 43(6), 1254-1256. <https://doi.org/10.1212/wnl.43.6.1254>

Pei, J. J., Tanaka, T., Tung, Y. C., Braak, E., Iqbal, K., & Grundke-Iqbal, I. (1997). Distribution, levels, and activity of glycogen synthase kinase-3 in the Alzheimer disease brain. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 56(1), 70-78. <https://doi.org/10.1097/00005072-199701000-00007>

Pelletier, J., & Sonenberg, N. (1988). Internal initiation of translation of eukaryotic mRNA directed by a sequence derived from poliovirus RNA. *Nature*, 334(6180), 320-325. <https://doi.org/10.1038/334320a0>

Pérez, M. J., Vergara-Pulgar, K., Jara, C., Cabezas-Opazo, F., & Quintanilla, R. A. (2018). Caspase-Cleaved Tau Impairs Mitochondrial Dynamics in Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 55(2), 1004-1018. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0385-x>

Pestova, T. V., & Kolupaeva, V. G. (2002). The roles of individual eukaryotic translation initiation factors in ribosomal scanning and initiation codon selection. *Genes & Development*, 16(22), 2906-2922. <https://doi.org/10.1101/gad.1020902>

Piyushbhai, M. K., Binesh, A., Shanmugam, S. A., & Venkatachalam, K. (2023). Exposure to low-dose arsenic caused teratogenicity and upregulation of proinflammatory cytokines in zebrafish embryos. *Biological Trace Element Research*, 201(7), 3487-3496. <https://doi.org/10.1007/s12011-022-03418-w>

Polydoro, M., Acker, C. M., Duff, K., Castillo, P. E., & Davies, P. (2009). Age-dependent impairment of cognitive and synaptic function in the htau mouse model of tau pathology. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(34), 10741-10749. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1065-09.2009>

Poorkaj, P., Kas, A., D'Souza, I., Zhou, Y., Pham, Q., Stone, M., Olson, M. V., & Schellenberg, G. D. (2001). A genomic sequence analysis of the mouse and human microtubule-associated protein tau. *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, 12(9), 700-712. <https://doi.org/10.1007/s00335-001-2044-8>

Q

Qi, H., Prabakaran, S., Cantrelle, F.-X., Chambrud, B., Gunawardena, J., Lippens, G., & Landrieu, I. (2016). Characterization of Neuronal Tau Protein as a Target of Extracellular Signal-regulated Kinase. *The Journal of Biological Chemistry*, 291(14), 7742-7753. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.700914>

Quinn, J. P., Corbett, N. J., Kellett, K. A. B., & Hooper, N. M. (2018). Tau Proteolysis in the Pathogenesis of Tauopathies: Neurotoxic Fragments and Novel Biomarkers. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 63(1), 13-33. <https://doi.org/10.3233/JAD-170959>

Quintanilla, R. A., Dolan, P. J., Jin, Y. N., & Johnson, G. V. W. (2012). Truncated tau and A β cooperatively impair mitochondria in primary neurons. *Neurobiology of Aging*, 33(3), 619.e25-35. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.02.007>

Quintanilla, R. A., Tapia-Monsalves, C., Vergara, E. H., Pérez, M. J., & Aranguiz, A. (2020). Truncated Tau Induces Mitochondrial Transport Failure Through the Impairment of TRAK2 Protein and

Bioenergetics Decline in Neuronal Cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 175. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00175>

R

Radford, H., Moreno, J. A., Verity, N., Halliday, M., & Mallucci, G. R. (2015a). PERK inhibition prevents tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of frontotemporal dementia. *Acta Neuropathologica*, 130(5), 633-642. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1487-z>

Radford, H., Moreno, J. A., Verity, N., Halliday, M., & Mallucci, G. R. (2015b). PERK inhibition prevents tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of frontotemporal dementia. *Acta Neuropathologica*, 130(5), 633-642. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1487-z>

Rahman, Md. A., Hannan, Md. A., Uddin, M. J., Rahman, M. S., Rashid, M. M., & Kim, B. (2021). Exposure to Environmental Arsenic and Emerging Risk of Alzheimer's Disease: Perspective Mechanisms, Management Strategy, and Future Directions. *Toxics*, 9(8), 188. <https://doi.org/10.3390/toxics9080188>

Rahmani, A., Khamutian, S., Doosti-Irani, A., Shokoohizadeh, M. J., Shirmohammadi-Khorram, N., Sahraeei, F., Khodabakhshi, M., & Ahangaran, N. (2023). The association of arsenic exposure with mortality due to cancer, diabetes, Alzheimer's and congenital anomalies using Poisson regression. *Scientific Reports*, 13, 15456. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42744-4>

Ravalin, M., Theofilas, P., Basu, K., Opoku-Nsiah, K. A., Assimon, V. A., Medina-Cleghorn, D., Chen, Y.-F., Bohn, M. F., Arkin, M., Grinberg, L. T., Craik, C. S., & Gestwicki, J. E. (2019). Specificity for latent C termini links the E3 ubiquitin ligase CHIP to caspases. *Nature Chemical Biology*, 15(8), 786-794. <https://doi.org/10.1038/s41589-019-0322-6>

Raychaudhuri, S., Sinha, M., Mukhopadhyay, D., & Bhattacharyya, N. P. (2008). HYPK, a Huntingtin interacting protein, reduces aggregates and apoptosis induced by N-terminal Huntingtin with 40 glutamines in Neuro2a cells and exhibits chaperone-like activity. *Human Molecular Genetics*, 17(2), 240-255. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm301>

Reimer, L., Betzer, C., Kofoed, R. H., Volbracht, C., Fog, K., Kurhade, C., Nilsson, E., Överby, A. K., & Jensen, P. H. (2021). PKR kinase directly regulates tau expression and Alzheimer's disease-related tau phosphorylation. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 31(1), 103-119. <https://doi.org/10.1111/bpa.12883>

Reynolds, C. H., Garwood, C. J., Wray, S., Price, C., Kellie, S., Perera, T., Zvelebil, M., Yang, A., Sheppard, P. W., Varndell, I. M., Hanger, D. P., & Anderton, B. H. (2008). Phosphorylation regulates tau interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase Cgamma1, Grb2, and Src family kinases. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(26), 18177-18186. <https://doi.org/10.1074/jbc.M709715200>

Richter, J. D., & Sonenberg, N. (2005). Regulation of cap-dependent translation by eIF4E inhibitory proteins. *Nature*, 433(7025), 477-480. <https://doi.org/10.1038/nature03205>

Roberson, E. D., Scarce-Levie, K., Palop, J. J., Yan, F., Cheng, I. H., Wu, T., Gerstein, H., Yu, G.-Q., & Mucke, L. (2007). Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5825), 750-754. <https://doi.org/10.1126/science.1141736>

Rodríguez-Barranco, M., Lacasaña, M., Aguilar-Garduño, C., Alguacil, J., Gil, F., González-Alzaga, B., & Rojas-García, A. (2013). Association of arsenic, cadmium and manganese exposure with neurodevelopment and behavioural disorders in children: A systematic review and meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 454-455, 562-577. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.047>

Rossi, G., Bastone, A., Piccoli, E., Mazzoleni, G., Morbin, M., Uggetti, A., Giaccone, G., Sperber, S., Beeg, M., Salmona, M., & Tagliavini, F. (2012). New mutations in MAPT gene causing frontotemporal lobar degeneration: Biochemical and structural characterization. *Neurobiology of Aging*, 33(4), 834.e1-6. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.08.008>

S

Saidi, L.-J., Polydoro, M., Kay, K. R., Sanchez, L., Mandelkow, E.-M., Hyman, B. T., & Spires-Jones, T. L. (2015). Carboxy terminus heat shock protein 70 interacting protein reduces tau-associated degenerative changes. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 44(3), 937-947. <https://doi.org/10.3233/JAD-142094>

Samaey, C., Schreurs, A., Stroobants, S., & Balschun, D. (2019). Early Cognitive and Behavioral Deficits in Mouse Models for Tauopathy and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 11, 335. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00335>

Savastano, A., Flores, D., Kadavath, H., Biernat, J., Mandelkow, E., & Zweckstetter, M. (2021). Disease-Associated Tau Phosphorylation Hinders Tubulin Assembly within Tau Condensates. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 60(2), 726-730. <https://doi.org/10.1002/anie.202011157>

Schindowski, K., Bretteville, A., Leroy, K., Bégard, S., Brion, J.-P., Hamdane, M., & Buée, L. (2006). Alzheimer's Disease-Like Tau Neuropathology Leads to Memory Deficits and Loss of Functional Synapses in a Novel Mutated Tau Transgenic Mouse without Any Motor Deficits. *The American Journal of Pathology*, 169(2), 599-616. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.060002>

Schöll, M., Lockhart, S. N., Schonhaut, D. R., O'Neil, J. P., Janabi, M., Ossenkoppele, R., Baker, S. L., Vogel, J. W., Faria, J., Schwimmer, H. D., Rabinovici, G. D., & Jagust, W. J. (2016). PET Imaging of Tau Deposition in the Aging Human Brain. *Neuron*, 89(5), 971-982. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.01.028>

Scholz, D., Chernyshova, Y., & Leist, M. (2013). Control of Aβ release from human neurons by differentiation status and RET signaling. *Neurobiology of Aging*, 34(1), 184-199. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.03.012>

Schweers, O., Schönbrunn-Hanebeck, E., Marx, A., & Mandelkow, E. (1994). Structural studies of tau protein and Alzheimer paired helical filaments show no evidence for beta-structure. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(39), 24290-24297.

Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 20(1), 11-21. <https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11>

Seiberlich, V., Bauer, N. G., Schwarz, L., Ffrench-Constant, C., Goldbaum, O., & Richter-Landsberg, C. (2015). Downregulation of the microtubule associated protein tau impairs process

outgrowth and myelin basic protein mRNA transport in oligodendrocytes. *Glia*, 63(9), 1621-1635. <https://doi.org/10.1002/glia.22832>

Selkoe, D. J., American College of Physicians, & American Physiological Society. (2004). Alzheimer disease : Mechanistic understanding predicts novel therapies. *Annals of Internal Medicine*, 140(8), 627-638. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-140-8-200404200-00047>

Selkoe, D. J., & Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, 8(6), 595-608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>

Sergeant, N., Delacourte, A., & Buée, L. (2005). Tau protein as a differential biomarker of tauopathies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1739(2), 179-197. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.06.020>

Serrano-Pozo, A., Das, S., & Hyman, B. T. (2021). APOE and Alzheimer's disease : Advances in genetics, pathophysiology, and therapeutic approaches. *The Lancet. Neurology*, 20(1), 68-80. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30412-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30412-9)

Sharma, S., Rakoczy, S., & Brown-Borg, H. (2010). Assessment of spatial memory in mice. *Life Sciences*, 87(17-18), 521-536. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.09.004>

Sheng, J. G., Mrak, R. E., & Griffin, W. S. (1997). Glial-neuronal interactions in Alzheimer disease : Progressive association of IL-1alpha+ microglia and S100beta+ astrocytes with neurofibrillary tangle stages. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 56(3), 285-290.

Sidrauski, C., Acosta-Alvear, D., Khoutorsky, A., Vedantham, P., Hearn, B. R., Li, H., Gamache, K., Gallagher, C. M., Ang, K. K.-H., Wilson, C., Okreglak, V., Ashkenazi, A., Hann, B., Nader, K., Arkin, M. R., Renslo, A. R., Sonenberg, N., & Walter, P. (2013). Pharmacological brake-release of mRNA translation enhances cognitive memory. *eLife*, 2, e00498. <https://doi.org/10.7554/eLife.00498>

Sidrauski, C., Tsai, J. C., Kampmann, M., Hearn, B. R., Vedantham, P., Jaishankar, P., Sokabe, M., Mendez, A. S., Newton, B. W., Tang, E. L., Verschueren, E., Johnson, J. R., Krogan, N. J., Fraser, C. S., Weissman, J. S., Renslo, A. R., & Walter, P. (2015). Pharmacological dimerization and activation of the exchange factor eIF2B antagonizes the integrated stress response. *eLife*, 4, e07314. <https://doi.org/10.7554/eLife.07314>

Sigala, J., Jumeau, F., Caillet-Boudin, M.-L., Sergeant, N., Ballot, C., Rigot, J.-M., Marcelli, F., Tardivel, M., Buée, L., & Mitchell, V. (2014). Immunodetection of Tau microtubule-associated protein in human sperm and testis. *Asian Journal of Andrology*, 16(6), 927-928. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.136446>

Simón, D., García-García, E., Gómez-Ramos, A., Falcón-Pérez, J. M., Díaz-Hernández, M., Hernández, F., & Avila, J. (2012). Tau overexpression results in its secretion via membrane vesicles. *Neuro-Degenerative Diseases*, 10(1-4), 73-75. <https://doi.org/10.1159/000334915>

Siridechadilok, B., Fraser, C. S., Hall, R. J., Doudna, J. A., & Nogales, E. (2005). Structural roles for human translation factor eIF3 in initiation of protein synthesis. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5753), 1513-1515. <https://doi.org/10.1126/science.1118977>

Sjöberg, M. K., Shestakova, E., Mansuroglu, Z., Maccioni, R. B., & Bonnefoy, E. (2006). Tau protein binds to pericentromeric DNA : A putative role for nuclear tau in nucleolar organization. *Journal of Cell Science*, 119(Pt 10), 2025-2034. <https://doi.org/10.1242/jcs.02907>

- Slomski, A. (2022). Anti-Tau Antibody Semorinemab Fails to Slow Alzheimer Disease. *JAMA*, 328(5), 415. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.12727>
- Smith, C. J., Anderton, B. H., Davis, D. R., & Gallo, J. M. (1995). Tau isoform expression and phosphorylation state during differentiation of cultured neuronal cells. *FEBS Letters*, 375(3), 243-248. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01221-y](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01221-y)
- Son, S. H., Lee, N.-R., Gee, M. S., Song, C. W., Lee, S. J., Lee, S.-K., Lee, Y., Kim, H. J., Lee, J. K., Inn, K.-S., & Kim, N.-J. (2023). Chemical Knockdown of Phosphorylated p38 Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) as a Novel Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease. *ACS Central Science*, 9(3), 417-426. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.2c01369>
- Sonenberg, N., & Hinnebusch, A. G. (2009). Regulation of translation initiation in eukaryotes : Mechanisms and biological targets. *Cell*, 136(4), 731-745. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.042>
- Sorokin, I. I., Vassilenko, K. S., Terenin, I. M., Kalinina, N. O., Agol, V. I., & Dmitriev, S. E. (2021). Non-Canonical Translation Initiation Mechanisms Employed by Eukaryotic Viral mRNAs. *Biochemistry. Biokhimiia*, 86(9), 1060-1094. <https://doi.org/10.1134/S0006297921090042>
- Sotiropoulos, I., Galas, M.-C., Silva, J. M., Skoulakis, E., Wegmann, S., Maina, M. B., Blum, D., Sayas, C. L., Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., Spillantini, M. G., Sousa, N., Avila, J., Medina, M., Mudher, A., & Buee, L. (2017). Atypical, non-standard functions of the microtubule associated Tau protein. *Acta Neuropathologica Communications*, 5(1), 91. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0489-6>
- Spires-Jones, T. L., & Hyman, B. T. (2014). The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron*, 82(4), 756-771. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.05.004>
- Starheim, K. K., Gromyko, D., Evjenth, R., Rynningen, A., Varhaug, J. E., Lillehaug, J. R., & Arnesen, T. (2009). Knockdown of human N alpha-terminal acetyltransferase complex C leads to p53-dependent apoptosis and aberrant human Arl8b localization. *Molecular and Cellular Biology*, 29(13), 3569-3581. <https://doi.org/10.1128/MCB.01909-08>
- Sultan, A., Nessler, F., Violet, M., Bégard, S., Loyens, A., Talahari, S., Mansuroglu, Z., Marzin, D., Sergeant, N., Humez, S., Colin, M., Bonnefoy, E., Buée, L., & Galas, M.-C. (2011). Nuclear Tau, a Key Player in Neuronal DNA Protection. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(6), 4566-4575. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.199976>
- Sun, H., Yang, Y., Shao, H., Sun, W., Gu, M., Wang, H., Jiang, L., Qu, L., Sun, D., & Gao, Y. (2017). Sodium Arsenite-Induced Learning and Memory Impairment Is Associated with Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis in Rat Hippocampus. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 286. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00286>
- Swatton, J. E., Sellers, L. A., Faull, R. L. M., Holland, A., Iritani, S., & Bahn, S. (2004). Increased MAP kinase activity in Alzheimer's and Down syndrome but not in schizophrenia human brain. *The European Journal of Neuroscience*, 19(10), 2711-2719. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2004.03365.x>
- Szczerba, M., Johnson, B., Acciai, F., Gogerty, C., McCaughan, M., Williams, J., Kibler, K. V., & Jacobs, B. L. (2023). Canonical cellular stress granules are required for arsenite-induced necroptosis mediated by Z-DNA-binding protein 1. *Science Signaling*, 16(776), eabq0837. <https://doi.org/10.1126/scisignal.abq0837>

T

Takashima, A., Noguchi, K., Michel, G., Mercken, M., Hoshi, M., Ishiguro, K., & Imahori, K. (1996). Exposure of rat hippocampal neurons to amyloid beta peptide (25-35) induces the inactivation of phosphatidyl inositol-3 kinase and the activation of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 beta. *Neuroscience Letters*, 203(1), 33-36. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)12257-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)12257-5)

Tardivel, M., Bégard, S., Bousset, L., Dujardin, S., Coens, A., Melki, R., Buée, L., & Colin, M. (2016). Tunneling nanotube (TNT)-mediated neuron-to neuron transfer of pathological Tau protein assemblies. *Acta Neuropathologica Communications*, 4(1), 117. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0386-4>

Terry, R. D. (2000). Cell death or synaptic loss in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 59(12), 1118-1119. <https://doi.org/10.1093/jnen/59.12.1118>

Thakor, V. S., Tyagi, A., Lee, J. M., Coffman, F., & Mittal, R. (2024). Alois Alzheimer (1864-1915) : The Father of Modern Dementia Research and the Discovery of Alzheimer's Disease. *Cureus*, 16(10), e71731. <https://doi.org/10.7759/cureus.71731>

Thakur, M., Rachamalla, M., Niyogi, S., Datusalia, A. K., & Flora, S. J. S. (2021). Molecular Mechanism of Arsenic-Induced Neurotoxicity including Neuronal Dysfunctions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 10077. <https://doi.org/10.3390/ijms221810077>

Thal, D. R., Arendt, T., Waldmann, G., Holzer, M., Zedlick, D., Rüb, U., & Schober, R. (1998). Progression of neurofibrillary changes and PHF-tau in end-stage Alzheimer's disease is different from plaque and cortical microglial pathology. *Neurobiology of Aging*, 19(6), 517-525. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(98\)00090-6](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(98)00090-6)

Thal, D. R., Rüb, U., Orantes, M., & Braak, H. (2002). Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*, 58(12), 1791-1800. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.12.1791>

Thijssen, E. H., La Joie, R., Wolf, A., Strom, A., Wang, P., Iaccarino, L., Bourakova, V., Cobigo, Y., Heuer, H., Spina, S., VandeVrede, L., Chai, X., Proctor, N. K., Airey, D. C., Shcherbinin, S., Duggan Evans, C., Sims, J. R., Zetterberg, H., Blennow, K., ... Boxer, A. L. (2020). Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Nature Medicine*, 26(3), 387-397. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0762-2>

Thurston, V. C., Zinkowski, R. P., & Binder, L. I. (1996). Tau as a nucleolar protein in human nonneural cells in vitro and in vivo. *Chromosoma*, 105(1), 20-30. <https://doi.org/10.1007/BF02510035>

Tidu, A., & Martin, F. (2024). The interplay between *cis*- and *trans*-acting factors drives selective mRNA translation initiation in eukaryotes. *Biochimie*, 217, 20-30. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.09.017>

Tolins, M., Ruchirawat, M., & Landrigan, P. (2014). The Developmental Neurotoxicity of Arsenic : Cognitive and Behavioral Consequences of Early Life Exposure. *Annals of Global Health*, 80(4). <https://doi.org/10.1016/j.aogh.2014.09.005>

Trabzuni, D., Wray, S., Vandrovcsa, J., Ramasamy, A., Walker, R., Smith, C., Luk, C., Gibbs, J. R., Dillman, A., Hernandez, D. G., Arepalli, S., Singleton, A. B., Cookson, M. R., Pittman, A. M., de Silva, R.,

Weale, M. E., Hardy, J., & Ryten, M. (2012). MAPT expression and splicing is differentially regulated by brain region: Relation to genotype and implication for tauopathies. *Human Molecular Genetics*, 21(18), 4094-4103. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds238>

Trejo-Lopez, J. A., Yachnis, A. T., & Prokop, S. (2022). Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics*, 19(1), 173-185. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01146-y>

Trexler, A. J., & Rhoades, E. (2012). N-Terminal acetylation is critical for forming α -helical oligomer of α -synuclein. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, 21(5), 601-605. <https://doi.org/10.1002/pro.2056>

Troquier, L., Caillierez, R., Burnouf, S., Fernandez-Gomez, F. J., Grosjean, M.-E., Zommer, N., Sergeant, N., Schraen-Maschke, S., Blum, D., & Buee, L. (2012). Targeting phospho-Ser422 by active Tau Immunotherapy in the THYTau22 mouse model: A suitable therapeutic approach. *Current Alzheimer Research*, 9(4), 397-405. <https://doi.org/10.2174/156720512800492503>

Tsai, N.-P., Tsui, Y.-C., & Wei, L.-N. (2009). Dynein motor contributes to stress granule dynamics in primary neurons. *Neuroscience*, 159(2), 647-656. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.12.053>

Tsuji, J. S., Garry, M. R., Perez, V., & Chang, E. T. (2015). Low-level arsenic exposure and developmental neurotoxicity in children: A systematic review and risk assessment. *Toxicology*, 337, 91-107. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2015.09.002>

Tüshaus, J., Kataka, E. S., Zaucha, J., Frishman, D., Müller, S. A., & Lichtenthaler, S. F. (2021). Neuronal Differentiation of LUHMES Cells Induces Substantial Changes of the Proteome. *PROTEOMICS*, 21(1), 2000174. <https://doi.org/10.1002/pmic.202000174>

U

Udumula, M. P., Babu, M. S., Bhat, A., Dhar, I., Sriram, D., & Dhar, A. (2017). High glucose impairs insulin signaling via activation of PKR pathway in L6 muscle cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 486(3), 645-651. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.03.078>

V

Vagnozzi, A. N., Giannopoulos, P. F., & Praticò, D. (2017). The direct role of 5-lipoxygenase on tau pathology, synaptic integrity and cognition in a mouse model of tauopathy. *Translational Psychiatry*, 7(12), 1288. <https://doi.org/10.1038/s41398-017-0017-2>

Van der Jeugd, A., Hochgräfe, K., Ahmed, T., Decker, J. M., Sydow, A., Hofmann, A., Wu, D., Messing, L., Balschun, D., D'Hooze, R., & Mandelkow, E.-M. (2012). Cognitive defects are reversible in inducible mice expressing pro-aggregant full-length human Tau. *Acta Neuropathologica*, 123(6), 787-805. <https://doi.org/10.1007/s00401-012-0987-3>

Van Der Jeugd, A., Vermaercke, B., Derisbourg, M., Lo, A. C., Hamdane, M., Blum, D., Buée, L., & D'Hooze, R. (2013). Progressive Age-Related Cognitive Decline in Tau Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 37(4), 777-788. <https://doi.org/10.3233/JAD-130110>

Vanden Broeck, A., & Klinge, S. (2024). Eukaryotic Ribosome Assembly. *Annual Review of Biochemistry*, 93(1), 189-210. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-030222-113611>

Vanderweyde, T., Apicco, D. J., Youmans-Kidder, K., Ash, P. E. A., Cook, C., Lummertz da Rocha, E., Jansen-West, K., Frame, A. A., Citro, A., Leszyk, J. D., Ivanov, P., Abisambra, J. F., Steffen, M., Li, H., Petrucelli, L., & Wolozin, B. (2016). Interaction of tau with the RNA-Binding Protein TIA1 Regulates tau Pathophysiology and Toxicity. *Cell Reports*, 15(7), 1455-1466. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.04.045>

Varshavsky, A. (2024). N-degron pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(39), e2408697121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2408697121>

Vattem, K. M., & Wek, R. C. (2004). Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(31), 11269-11274. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400541101>

Venkatramani, A., & Panda, D. (2019). Regulation of neuronal microtubule dynamics by tau : Implications for tauopathies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 473-483. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.120>

Violet, M., Chauderlier, A., Delattre, L., Tardivel, M., Chouala, M. S., Sultan, A., Marciniak, E., Humez, S., Binder, L., Kaye, R., Lefebvre, B., Bonnefoy, E., Buée, L., & Galas, M.-C. (2015). Prefibrillar Tau oligomers alter the nucleic acid protective function of Tau in hippocampal neurons in vivo. *Neurobiology of Disease*, 82, 540-551. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.09.003>

Violet, M., Delattre, L., Tardivel, M., Sultan, A., Chauderlier, A., Caillierez, R., Talahari, S., Nessler, F., Lefebvre, B., Bonnefoy, E., Buée, L., & Galas, M.-C. (2014). A major role for Tau in neuronal DNA and RNA protection in vivo under physiological and hyperthermic conditions. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8, 84. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00084>

Vitale, F., Giliberto, L., Ruiz, S., Steslow, K., Marambaud, P., & d'Abramo, C. (2018). Anti-tau conformational scFv MC1 antibody efficiently reduces pathological tau species in adult JNPL3 mice. *Acta Neuropathologica Communications*, 6(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0585-2>

von Bergen, M., Barghorn, S., Müller, S. A., Pickhardt, M., Biernat, J., Mandelkow, E.-M., Davies, P., Aebi, U., & Mandelkow, E. (2006). The core of tau-paired helical filaments studied by scanning transmission electron microscopy and limited proteolysis. *Biochemistry*, 45(20), 6446-6457. <https://doi.org/10.1021/bi052530j>

W

Wakabayashi, T., Yamaguchi, K., Matsui, K., Sano, T., Kubota, T., Hashimoto, T., Mano, A., Yamada, K., Matsuo, Y., Kubota, N., Kadowaki, T., & Iwatsubo, T. (2019). Differential effects of diet- and genetically-induced brain insulin resistance on amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 14(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0315-7>

Wang, S., & Sun, S. (2023). Translation dysregulation in neurodegenerative diseases : A focus on ALS. *Molecular Neurodegeneration*, 18(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s13024-023-00642-3>

Wang, Y., Loomis, P. A., Zinkowski, R. P., & Binder, L. I. (1993). A novel tau transcript in cultured human neuroblastoma cells expressing nuclear tau. *The Journal of Cell Biology*, 121(2), 257-267. <https://doi.org/10.1083/jcb.121.2.257>

Wang, Y., & Mandelkow, E. (2016). Tau in physiology and pathology. *Nature Reviews. Neuroscience*, 17(1), 5-21. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.1>

Wang, Y. P., Biernat, J., Pickhardt, M., Mandelkow, E., & Mandelkow, E.-M. (2007). Stepwise proteolysis liberates tau fragments that nucleate the Alzheimer-like aggregation of full-length tau in a neuronal cell model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(24), 10252-10257. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703676104>

Wei, N., Zhu, L.-Q., & Liu, D. (2015). ATF4 : A Novel Potential Therapeutic Target for Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 52(3), 1765-1770. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8970-8>

Wei, Y., Qu, M.-H., Wang, X.-S., Chen, L., Wang, D.-L., Liu, Y., Hua, Q., & He, R.-Q. (2008). Binding to the minor groove of the double-strand, tau protein prevents DNA from damage by peroxidation. *PloS One*, 3(7), e2600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002600>

Weingarten, M. D., Lockwood, A. H., Hwo, S. Y., & Kirschner, M. W. (1975). A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(5), 1858-1862. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858>

Wells, S. E., Hillner, P. E., Vale, R. D., & Sachs, A. B. (1998). Circularization of mRNA by eukaryotic translation initiation factors. *Molecular Cell*, 2(1), 135-140. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80122-7](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80122-7)

Wischik, C. M., Novak, M., Thøgersen, H. C., Edwards, P. C., Runswick, M. J., Jakes, R., Walker, J. E., Milstein, C., Roth, M., & Klug, A. (1988). Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(12), 4506-4510. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.12.4506>

Wolozin, B. (2012). Regulated protein aggregation : Stress granules and neurodegeneration. *Molecular Neurodegeneration*, 7(1), 56. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-56>

X

Xiong, L., Huang, J., Gao, Y., Gao, Y., Wu, C., He, S., Zou, L., Yang, D., Han, Y., Yuan, Q., Zheng, Z., & Hu, G. (2021). Sodium arsenite induces spatial learning and memory impairment associated with oxidative stress and activates the Nrf2/PPAR γ pathway against oxidative injury in mice hippocampus. *Toxicology Research*, 10(2), 277-283. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfab007>

Xu, B., Liu, L., & Song, G. (2021). Functions and Regulation of Translation Elongation Factors. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 816398. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.816398>

Y

Yamaguchi, H., Ishiguro, K., Uchida, T., Takashima, A., Lemere, C. A., & Imahori, K. (1996). Preferential labeling of Alzheimer neurofibrillary tangles with antisera for tau protein kinase (TPK)

l/glycogen synthase kinase-3 beta and cyclin-dependent kinase 5, a component of TPK II. *Acta Neuropathologica*, 92(3), 232-241. <https://doi.org/10.1007/s004010050513>

Yamasaki, S., & Anderson, P. (2008). Reprogramming mRNA translation during stress. *Current Opinion in Cell Biology*, 20(2), 222-226. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2008.01.013>

Yamashima, T. (2013). Reconsider Alzheimer's disease by the 'calpain-cathepsin hypothesis' —A perspective review. *Progress in Neurobiology*, 105, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.02.004>

Yih, L.-H., Peck, K., & Lee, T.-C. (2002). Changes in gene expression profiles of human fibroblasts in response to sodium arsenite treatment. *Carcinogenesis*, 23(5), 867-876. <https://doi.org/10.1093/carcin/23.5.867>

Yin, Y., Stephen, C. W., Luciani, M. G., & Fåhræus, R. (2002). P53 stability and activity is regulated by Mdm2-mediated induction of alternative p53 translation products. *Nature Cell Biology*, 4(6), 462-467. <https://doi.org/10.1038/ncb801>

Yoshizaki, C., Tsukane, M., & Yamauchi, T. (2004). Overexpression of tau leads to the stimulation of neurite outgrowth, the activation of caspase 3 activity, and accumulation and phosphorylation of tau in neuroblastoma cells on cAMP treatment. *Neuroscience Research*, 49(4), 363-371. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2004.04.005>

Yuan, L., Mao, L.-H., Huang, Y.-Y., Outeiro, T. F., Li, W., Vieira, T. C. R. G., & Li, J.-Y. (2025). Stress granules : Emerging players in neurodegenerative diseases. *Translational Neurodegeneration*, 14, 22. <https://doi.org/10.1186/s40035-025-00482-9>

Yueh, A., & Schneider, R. J. (2000). Translation by ribosome shunting on adenovirus and hsp70 mRNAs facilitated by complementarity to 18S rRNA. *Genes & Development*, 14(4), 414-421.

Z

Zhang, B., Maiti, A., Shively, S., Lakhani, F., McDonald-Jones, G., Bruce, J., Lee, E. B., Xie, S. X., Joyce, S., Li, C., Toleikis, P. M., Lee, V. M.-Y., & Trojanowski, J. Q. (2005). Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(1), 227-231. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406361102>

Zhang, Z., Song, M., Liu, X., Kang, S. S., Kwon, I.-S., Duong, D. M., Seyfried, N. T., Hu, W. T., Liu, Z., Wang, J.-Z., Cheng, L., Sun, Y. E., Yu, S. P., Levey, A. I., & Ye, K. (2014). Cleavage of tau by asparagine endopeptidase mediates the neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 20(11), 1254-1262. <https://doi.org/10.1038/nm.3700>

Zhao, F., Liao, Y., Tang, H., Piao, J., Wang, G., & Jin, Y. (2017). Effects of developmental arsenite exposure on hippocampal synapses in mouse offspring. *Metallomics: Integrated Biometal Science*, 9(10), 1394-1412. <https://doi.org/10.1039/c7mt00053g>

Zheng, Q., & Wang, X. (2025). Alzheimer's disease : Insights into pathology, molecular mechanisms, and therapy. *Protein & Cell*, 16(2), 83-120. <https://doi.org/10.1093/procel/pwae026>

Zheng-Fischhöfer, Q., Biernat, J., Mandelkow, E. M., Illenberger, S., Godemann, R., & Mandelkow, E. (1998). Sequential phosphorylation of Tau by glycogen synthase kinase-3beta and

protein kinase A at Thr212 and Ser214 generates the Alzheimer-specific epitope of antibody AT100 and requires a paired-helical-filament-like conformation. *European Journal of Biochemistry*, 252(3), 542-552. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2520542.x>

Zhou, Y., Shi, J., Chu, D., Hu, W., Guan, Z., Gong, C.-X., Iqbal, K., & Liu, F. (2018). Relevance of Phosphorylation and Truncation of Tau to the Etiopathogenesis of Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 27. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00027>

Zyryanova, A. F., Kashiwagi, K., Rato, C., Harding, H. P., Crespillo-Casado, A., Perera, L. A., Sakamoto, A., Nishimoto, M., Yonemochi, M., Shirouzu, M., Ito, T., & Ron, D. (2021). ISRIB Blunts the Integrated Stress Response by Allosterically Antagonising the Inhibitory Effect of Phosphorylated eIF2 on eIF2B. *Molecular Cell*, 81(1), 88-103.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.10.031>