

**Cell Reports, Volume 32**

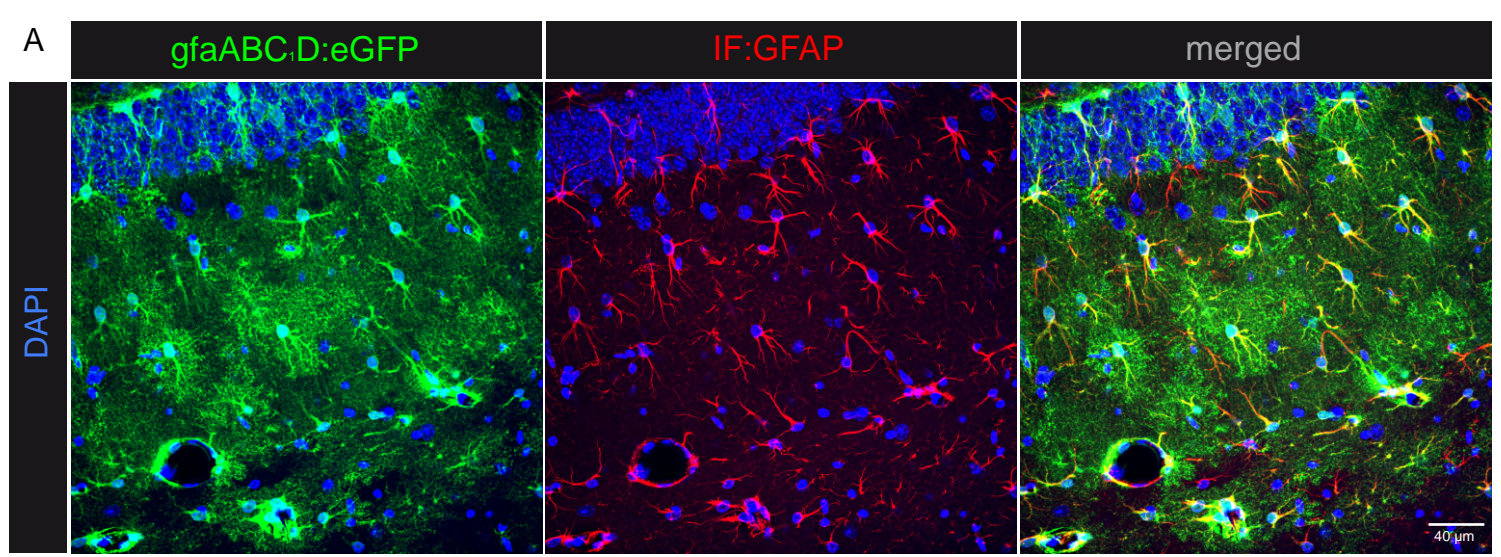
**Supplemental Information**

**Local Translation in Perisynaptic**

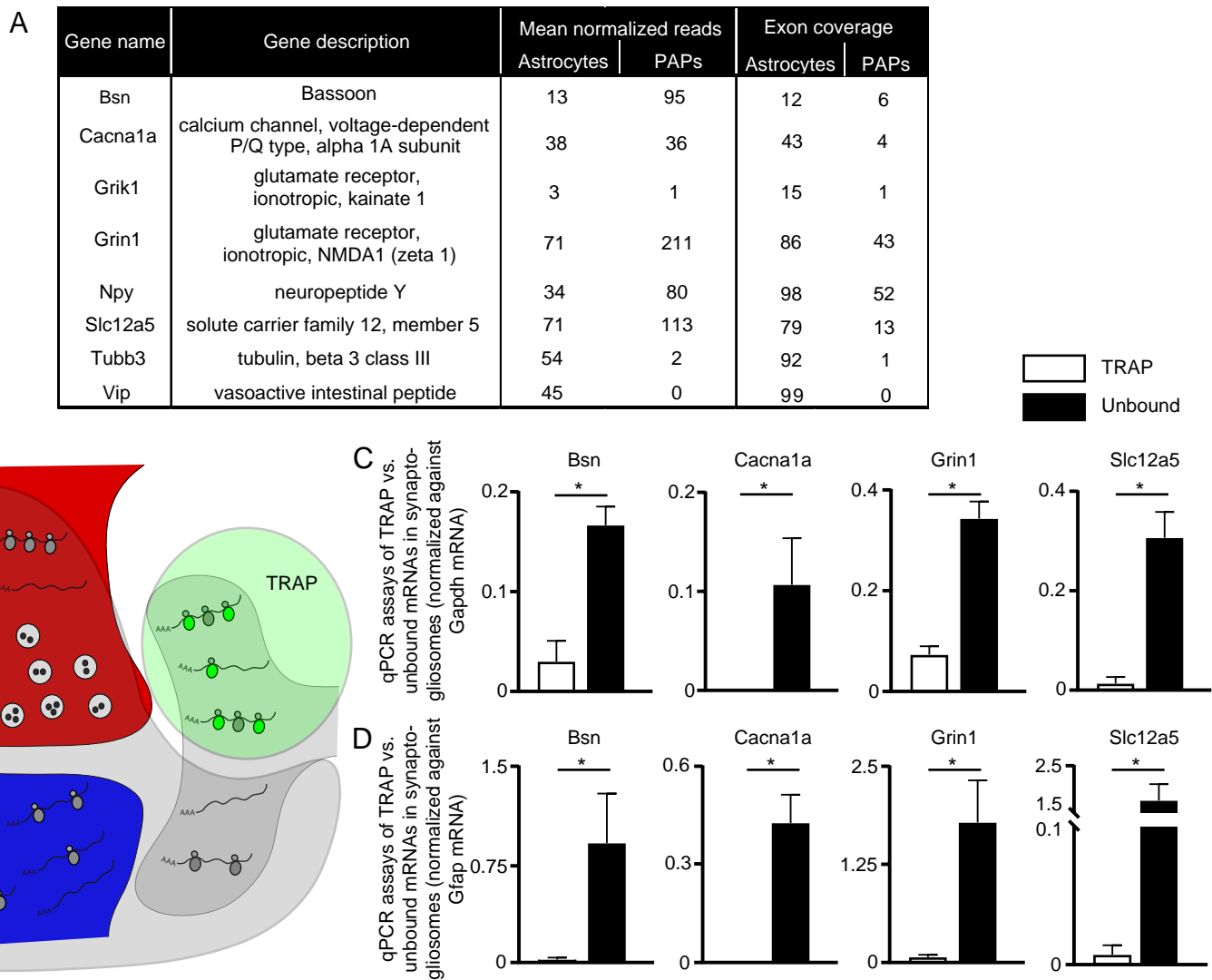
**Astrocytic Processes Is Specific**

**and Changes after Fear Conditioning**

**Noémie Mazaré, Marc Oudart, Julien Moulard, Giselle Cheung, Romain Tortuyaux, Philippe Mailly, David Mazaud, Alexis-Pierre Bemelmans, Anne-Cécile Boulay, Corinne Blugeon, Laurent Jourden, Stéphane Le Crom, Nathalie Rouach, and Martine Cohen-Salmon**



**Figure S1: Specificity of the AAV gfaABC<sub>1</sub>D-eGFP infection in astrocytes.** *Related to figure 1.* Hippocampal astrocytes are immunostained with GFP (green) and GFAP (red). Nuclei are stained with DAPI (blue).



**Figure S2: Absence of neuronal-specific mRNAs contamination in TRAP libraries.** Related to figure 2. **A.** Raw RNA-seq data for neuronal-specific mRNAs from dorsal hippocampal astrocyte-TRAP and PAP-TRAP. **B.** Schematic representation of the different synaptogliosome contents extracted for analysis in C and D. **C. D.** Quantitative PCR analysis of some neuronal-specific genes in the PAP-TRAP immunoprecipitated fraction compared to the unbound fraction from hippocampal synaptogliosomes, normalized on the ubiquitous Gapdh mRNA (C) and the astrocyte-specific Gfap mRNA (D). SEM: standard error of the mean; \*,  $p \leq 0.05$ ;  $n = 3$ ; one-tailed Mann-Whitney test.

Gene Name	Astrocyte polysomal mRNAs					PAP polysomal mRNAs					p-value	significance
	extract 1	extract 2	extract 3	Mean	SEM	extract 1	extract 2	extract 3	Mean	SEM		
Fth1	4,55	1,29	3,45	3,10	0,96	63,67	81,66	19,86	55,06	18,35	0,05	*
Ftl1	0,13	0,05	0,11	0,10	0,02	95,14	75,54	15,76	62,15	23,87	0,05	*
Ezr	0,06	0,04	0,2	0,10	0,05	11,78	15,6	3,15	10,18	3,68	0,05	*
Gnb211	0,45	0,58	0,97	0,67	0,16	125,7	87,13	42,08	84,97	24,16	0,05	*
Rpl8	1,54	0,94	1,72	1,40	0,24	168,06	102,36	48,8	106,41	34,49	0,05	*
Eef1a1	4,08	3,76	5,19	4,34	0,43	26667,84	309,58	13384,88	13454,10	7609,05	0,05	*
Eef2	0,92	0,64	1,51	1,02	0,26	120,34	120,7	89,12	110,05	10,47	0,05	*
Rdx	0	0,03	0,05	0,03	0,01	7,02	9,29	2,51	6,27	1,99	0,05	*
Rplp1	2,85	3,3	6,61	4,25	1,19	299,1	296,49	72,7	222,76	75,04	0,05	*
Rpl4	0,82	0,92	1,58	1,11	0,24	257,02	56,67	300	204,56	74,98	0,05	*
Rps14	0,08	0,06	0,18	0,11	0,04	3,6	2,93	1,8	2,78	0,53	0,05	*
Rps3	0,9	0,87	1,76	1,18	0,29	220,49	178,38	38,69	145,85	54,94	0,05	*
Ccnd2	0,08	0,4	0,4	0,29	0,11	74,3	71,71	37,73	61,25	11,78	0,05	*
Hsp90	1,08	0,75	0,98	0,94	0,10	70,97	48,28	19,9	46,38	14,77	0,05	*
Mdm2	0,02	0,02	0,01	0,02	0,00	24,36	17,61	9,05	17,01	4,43	0,05	*
Ncl	0,05	0,15	0,15	0,12	0,03	106,9	92,14	22,74	73,93	25,95	0,05	*
Npm1	0,6	0,14	0,26	0,33	0,14	95,97	87,93	31,31	71,74	20,35	0,05	*

**Table S2: qPCR analysis of ribosome-bound mRNAs in whole astrocytes and PAPs from the dorsal hippocampus. Related to figure 3.** SEM: standard error of the mean;

\*,  $p \leq 0.05$ ;  $n = 3$ ; one-tailed Mann-Whitney test.

Gene name	PvAP polysomal mRNAs					PAP polysomal mRNAs					p-value	significance	Enrichment
	Extract 1	Extract 2	Extract 3	Mean	SEM	Extract 1	Extract 2	Extract 3	Mean	SEM			
Ezr	1,42	1,61	1,29	1,44	0,09	3,64	3,00	3,15	3,26	0,19	0,05	*	PAP
Fth1	4,33	4,11	6,14	4,86	0,64	8,33	7,67	18,40	11,47	3,47	0,05	*	PAP
Rpl1	6,18	4,94	4,78	5,30	0,44	7,56	10,79	14,38	10,91	1,97	0,05	*	PAP
Ftl1	1,45	1,20	0,64	1,10	0,24	0,64	0,99	3,36	1,66	0,85	0,5	ns	None
Gnb2l1	2,06	1,92	0,90	1,63	0,37	1,18	0,76	3,96	1,97	1,00	0,5	ns	None
Hsp90	6,17	4,54	4,56	5,09	0,54	1,51	0,43	9,32	3,75	2,80	0,35	ns	None
Ncl	0,62	1,35	1,01	0,99	0,21	0,47	0,31	2,86	1,21	0,82	0,35	ns	None
Npm	2,25	7,22	1,96	3,81	1,71	3,06	0,98	5,39	3,14	1,27	0,5	ns	None
Rdx	2,24	15,17	3,14	6,85	4,17	3,00	1,21	5,80	3,34	1,34	0,35	ns	None
Eef2	13,48	43,79	11,03	22,77	10,54	18,75	5,56	27,18	17,16	6,29	0,5	ns	None
Rpl4	0,89	1,57	1,44	1,30	0,21	0,71	0,43	4,46	1,87	1,30	0,5	ns	None
Rpl8	5,90	3,51	2,00	3,80	1,14	2,65	2,10	11,81	5,52	3,15	0,5	ns	None
Rps14	0,89	1,57	1,44	1,30	0,21	0,71	0,43	4,46	1,87	1,30	0,35	ns	None
Rps3	0,17	0,12	0,05	0,11	0,03	0,17	0,22	1,22	0,54	0,34	0,1	ns	None

**Table S3: qPCR analysis of ribosome-bound mRNAs in PAPs and PvAPs from the hippocampus. Related to figure 4.** SEM: standard error of the mean; \*,  $p \leq 0.05$ , ns: not significant;  $n = 3$ ; one-tailed Mann-Whitney test.

Gene name	Density						Distribution in Soma					
	Control		Fear		p-value	Significance	Control		Fear		p-value	Significance
	Mean	SEM	Mean	SEM			Mean	SEM	Mean	SEM		
Ccnd2	0,0064	0,0008	0,0070	0,0007	<0,0001	****	7,7220	0,5279	7,3100	0,6611	0,1500	ns
Ftl1	0,01281	0,001122	0,01003	0,0005351	0,0282	*	10,61	0,7933	12,57	0,7321	0,0719	ns
Fth1	0,1024	0,003867	0,09257	0,006674	0,2	ns	3,883	0,2967	6,98	0,5634	<0,0001	****
Eef1a1	0,0593	0,00307	0,04545	0,001985	0,0007	***	7,636	0,5853	7,15	0,6849	0,5911	ns
Mdm2	0,006992	0,0007308	0,002771	0,0002454	<0,0001	****	6,366	0,5433	7,743	0,781	0,1504	ns
Gnb2l1	0,007999	0,0005569	0,006569	0,000348	0,0327	*	8,517	0,6932	13,16	1,102	0,0006	***

Gene name	Distribution in Large Processes						Distribution in Fine Processes					
	Control		Fear		p-value	Significance	Control		Fear		p-value	Significance
	Mean	SEM	Mean	SEM			Mean	SEM	Mean	SEM		
Ccnd2	16,21	1,001	12,82	0,6692	0,0024	**	76,07	1,179	79,87	0,9033	0,0008	***
Ftl1	8,83	0,6126	10,89	0,7023	0,0288	*	80,56	0,896	76,54	0,9856	0,0037	**
Fth1	8,678	0,5576	10,47	0,7563	0,05	ns	87,44	0,7392	82,55	0,9345	<0,0001	****
Eef1a1	14,41	0,5538	13,28	0,5514	0,1621	ns	77,96	0,8681	79,57	0,9426	0,2158	ns
Mdm2	11,9	0,9328	16,33	1,084	0,0024	**	81,77	1,025	75,93	1,362	0,0008	***
Gnb2l1	11,64	0,9398	15,92	0,9353	0,0017	**	79,85	1,339	70,91	1,572	<0,0001	****

**Table S4: Analysis of the density and distribution of PAP-enriched mRNAs in control mice and fear-conditioned mice.** Related to figure 6. AstroDot analysis for the density and distribution of mRNAs Ccnd2, Gnb2l1, Eef1a1, Mdm2, Fth1, and Ftl1 mRNAs in control and fear-conditioned mice. SEM: standard error of the mean;  $n \geq 35$  cells for all markers, three mice per condition. Unpaired two-tailed t-test.

Gene name	PAP polysomal mRNAs in control conditions					PAP polysomal mRNAs upon fear							p-value	significance
	Extract 1	Extract 2	Extract 3	Mean	SEM	Extract 1	Extract 2	Extract 3	Extract 4	Extract 5	Mean	SEM		
Eef1a1	26667,8	309,6	13384,9	13454,1	7609,1	27,8	17,1	6,1	11,1	9,6	14,3	3,8	1,00E-04	***
Ccnd2	74,3	71,7	37,7	61,2	11,8	0,9	0,6	0,3	0,3	0,2	0,5	0,1	0,02	*
Fth1	63,7	81,7	19,9	55,1	18,4	16,8	17,1	9,7	17,3	12,4	14,7	1,5	0,02	*
Ftl1	95,1	75,5	15,8	62,1	23,9	1,5	1,7	1,1	1,3	0,9	1,3	0,1	0,02	*
Gnb2l1	125,7	87,1	42,1	85,0	24,2	1,5	2,1	1,1	2,0	2,6	1,9	0,3	0,02	*
Mdm2	24,4	17,6	9,1	17,0	4,4	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,02	*

Gene name	Polysomal mRNAs from whole astrocytes in control conditions					Polysomal mRNAs from whole astrocytes upon fear							p-value	significance
	Extract 1	Extract 2	Extract 3	Mean	SEM	Extract 1	Extract 2	Extract 3	Extract 4	Mean	SEM			
Eef1a1	4,1	3,8	5,2	4,34	0,43	2,99	3,18	2,76	3,12	3,01	0,11	0,03	*	
Ccnd2	0,08	0,4	0,4	0,29	0,11	0,08	0,12	0,18	0,20	0,15	0,03	0,26	ns	
Fth1	4,55	1,29	3,45	3,10	0,96	2,43	1,21	2,72	3,03	2,35	0,46	0,20	ns	
Ftl1	0,13	0,05	0,11	0,10	0,02	0,09	0,13	0,24	0,12	0,15	0,04	0,23	ns	
Gnb2l1	0,45	0,58	0,97	0,67	0,16	0,77	0,67	0,41	0,72	0,64	0,09	0,50	ns	
Mdm2	0,02	0,02	0,01	0,02	0,00	0,04	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,20	ns	

**Table S5: qPCR analysis of dorsal hippocampus ribosome-bound mRNAs in whole astrocytes and PAPs in control and fear-conditioned mice.** *Related to figure 6.* SEM: standard error of the mean; \*,  $p \leq 0.05$ ; \*\*\*,  $p \leq 0.0001$ , ns: not significant in a one-tailed Mann-Whitney test; n = 3 to 5.