

C. elegans, les promesses d'un petit animal intelligent : « Small is beautiful »

Lorsque Sydney Brenner jeta son dévolu sur le nématode *Caenorhabditis elegans* au début des années 1960, c'était fort des succès qu'il avait obtenus en étudiant les phages T4 et lambda. Il pensait que l'étude de la biologie du développement et du système nerveux serait plus simple chez un petit animal comme le nématode *C. elegans*, tout comme l'étude des problèmes fondamentaux de la biologie moléculaire avait été grandement facilitée par l'étude de modèles simples tels que les coliphages et les bactéries.

L'anatomie du système nerveux de *C. elegans*

C. elegans offre cinq atouts remarquables pour l'étude du système nerveux : le lignage complet de l'animal a été retracé [1] ; le diagramme complet de connexion des neurones entre eux et avec leurs cibles a été reconstitué à partir de clichés de microscopie électronique sur coupes sériées [2] ; l'animal ne possède qu'un très petit nombre de cellules ; il se reproduit en trois jours ; on peut coupler études génétiques et pharmacologiques. *C. elegans* produit 1 090 cellules somatiques au cours du développement ; parmi celles-ci, 302 sont des neurones, 50 des cellules-support, associées aux organes nerveux sensoriels, et 131 meurent d'apoptose. Ainsi chaque circuit nerveux est composé d'au plus quelques dizaines de cellules.

Il existe divers types de cellules nerveuses, motoneurones, interneurones, neurones sensoriels, qui établissent des synapses chimiques, des jonctions et utilisent différents neurotransmetteurs (la sérotonine, le

GABA, l'acétylcholine, la dopamine, le FMRFamide, l'octopamine ont été détectés). Le système nerveux (figure 1) comporte un neuropile, sorte de système nerveux central situé dans la partie antérieure de l'animal, une corde nerveuse ventrale et plusieurs organes sensoriels périphériques. Un nombre important de neurones sont regroupés en ganglions ; en outre, le pharynx comporte un système nerveux pratiquement indépendant. Les principales méthodes d'étude sont, outre la génétique et la biologie moléculaire, l'ablation sélective des cellules qui permet de déterminer la fonction d'un neurone donné, l'observation directe des cellules et de leurs projections par microscopie optique ou par immunofluorescence indirecte et la pharmacologie. Les études électrophysiologiques chez cet animal sont techniquement difficiles,

car l'animal est petit, mais pas impossibles ; elles sont, par ailleurs, facilement réalisables chez une espèce proche, *Ascaris*.

Tous les aspects de la neurobiologie peuvent être abordés par le biais de *C. elegans*, ce qui sera illustré au travers de quatre circuits nerveux. (1) *C. elegans* possède dix récepteurs mécanosensoriels : en réponse à un toucher sur la partie antérieure du corps, l'animal va reculer (et *vice versa*). (2) Cinquante-sept motoneurones contrôlent la contraction et la relaxation alternée des muscles ventraux et dorsaux lorsque l'animal se déplace. (3) Deux organes sensoriels, composés chacun de douze cellules nerveuses ciliées permettent à l'animal de sentir les composés solubles ou volatiles présents dans son environnement. (4) Deux motoneurones contrôlent le cycle de défécation.

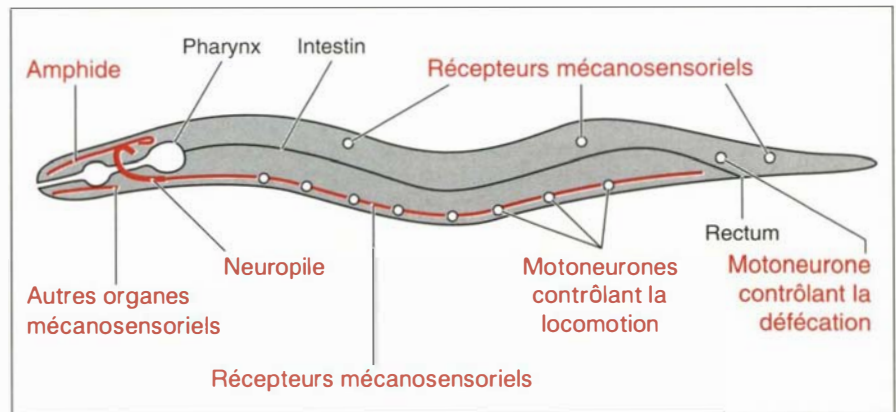


Figure 1. **Structure du système nerveux de *C. elegans*.** Pour ne pas surcharger ce schéma, seuls quelques neurones parmi ceux qui sont discutés dans le texte ont été figurés. L'antérieur de l'animal se trouve à gauche, la partie ventrale en bas.

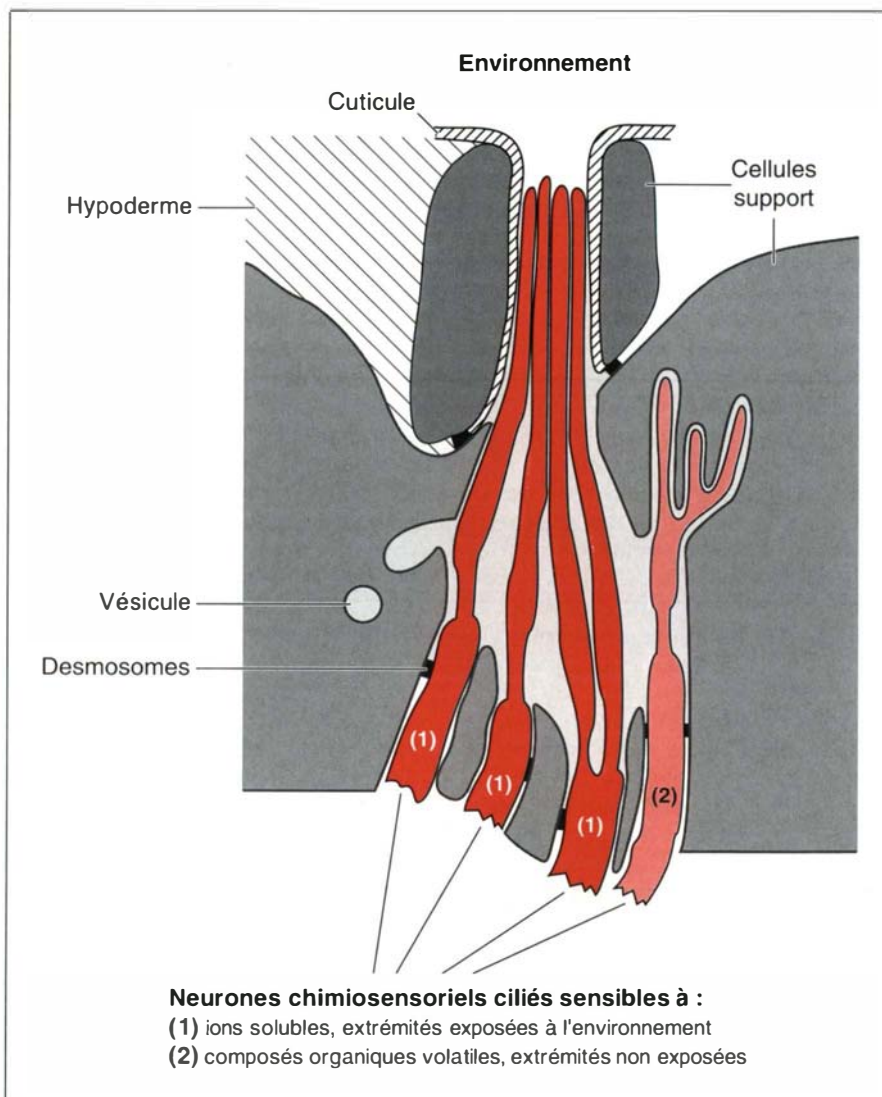


Figure 2. **Structure d'un organe chimiosensoriel, « l'amphibe ».** Vue en coupe longitudinale de l'amphibe. Les neurones sensoriels sont associés à deux cellules support jouant un rôle similaire à celui des cellules gliales chez les vertébrés. Tous les neurones n'ont pas été représentés. L'ouverture de l'amphibe se trouve dans le nez de l'animal (en haut du schéma) et les corps cellulaires postérieurement à la neuropile (figure 1). (Adapté de [31].)

Différenciation des cellules nerveuses

L'obtention de mutants qui ne répondent pas à un toucher sur le corps a permis d'identifier plusieurs gènes qui affectent l'ontogenèse ou le fonctionnement des neurones récepteurs mécanosensoriels. Parmi ces gènes, trois gènes appelés *lin-32*, *unc-86* et *mec-3* bloquent la naissance ou la différenciation de ces neurones [3]. L'étude de ces gènes est susceptible d'apporter une contribution importante au problème de la différenciation des cellules nerveuses et

du contrôle combinatoire des facteurs de transcription. En effet, le gène *mec-3* n'est nécessaire qu'à la différenciation des récepteurs mécanosensoriels, tandis que les gènes *unc-86* et *lin-32* sont nécessaires à la production de plusieurs autres cellules nerveuses. Le gène *mec-3* code pour une protéine possédant une homéoboîte et un domaine LIM* [4]. Le gène *unc-86* code pour une protéine possédant une homéoboîte et un domaine POU* [5]. La protéine UNC-86 se fixe au promo-

* voir glossaire, p. 341.

teur du gène *mec-3*, et a pour rôle d'initier la transcription de ce gène. La protéine MEC-3 se fixe également à son propre promoteur pour maintenir sa transcription et serait responsable de la transcription des gènes effecteurs spécifiques des cellules mécanosensorielles [6, 7]. Plusieurs autres gènes sont également nécessaires à la génération et la différenciation du nombre approprié de récepteurs mécanosensoriels [8].

Axonogenèse

L'analyse de nombreux mutants présentant un défaut de coordination

dans leurs mouvements (mutants *unc*) a montré que, chez certains, les axones suivent une trajectoire aberrante et n'atteignent jamais leur cible. Cela a permis d'identifier plusieurs gènes dont la fonction est de guider les cônes de croissance lors de l'axonogenèse. Une première classe de gènes guide les axones lors de leur migration dans l'axe antéro-postérieur [9], une autre lors de leur migration dans l'axe dorso-ventral. Cette deuxième classe comporte les gènes *unc-6*, *unc-5* et *unc-40*. Le gène *unc-6* est nécessaire à la migration des axones en direction dorsale et ventrale, tandis que le gène *unc-5* n'est nécessaire qu'à la migration en direction dorsale et *unc-40* en direction ventrale (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1264*, [10]). Le gène *unc-6* code pour une protéine analogue à la chaîne B de la laminine [11]; il s'agit donc d'une protéine sécrétée. Le gène *unc-5* code pour un récepteur présentant des domaines immunoglobuline et thrombospondine de type I [12]. La protéine UNC-5 pourrait être un récepteur pour la protéine UNC-6. C'est la première fois qu'un couple récepteur/ligand impliqué dans la migration des axones est identifié (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1264*). La caractérisation des autres gènes impliqués dans l'axonogenèse est en cours.

Choix du partenaire synaptique

Au cours du développement, les cellules nerveuses doivent établir des synapses avec les cibles appropriées et donc faire un choix de partenaire synaptique. Chez le mutant *unc-4*, au déplacement non coordonné, les motoneurones appelés VA établissent certaines de leurs synapses avec le mauvais partenaire synaptique. D'autres critères cependant montrent que l'identité des cellules VA n'est pas changée [13]. Le gène *unc-4*, qui code pour une protéine à homéoboîte, contrôle donc le choix du partenaire synaptique [14]. La poursuite de l'étude de ce gène, en particulier l'identification des cibles de ce gène, devrait nous apprendre beaucoup.

Le problème du choix du partenaire synaptique est particulièrement crucial lors de l'élaboration des cartes somatotopiques. Ce problème devrait pouvoir être abordé avec succès chez *C. elegans*.

La réponse olfactive

C. elegans est attiré et se dirige aussi bien vers une source contenant des solutés tels que les ions Na⁺ ou Cl⁻, la biotine, la lysine, que des composés organiques volatils tels que le benzaldéhyde, l'alcool iso-amylique, l'acétone, le butanol. Chacun de ces composés est reconnu par un neurone ou une combinaison de neurones distincts [15, 16], regroupés dans un organe chimiosensoriel, appelé amphide, qui se trouve dans la tête de l'animal (*figure 2*). Deux neurones de l'amphide reconnaissent des composés toxiques pour l'animal, conduisant celui-ci à se détourner de la source du produit toxique [16].

L'un de ces deux neurones est aussi un neurone mécanosensoriel responsable d'un comportement réflexe consécutif à un toucher sur le nez, ce qui l'apparente aux nocicepteurs vertébrés [17]. Des mutants incapables de reconnaître les solutions normalement attirantes ou nocives ont été isolés [16, 18]. Les mutations pourraient affecter des récepteurs de composés chimiques, des seconds messagers impliqués dans la transduction du signal. Ce serait la première fois que des mutants aussi spécifiques seraient isolés.

Fonctionnement de la synapse Réponse postsynaptique

Une des fonctions essentielles de la cellule nerveuse est de libérer des neurotransmetteurs. Le processus de sécrétion des neurotransmetteurs est assuré par des vésicules qui fusionnent avec la membrane présynaptique. L'étude des vésicules de sécrétion a été abordée chez *C. elegans* par le biais de mutations permettant à l'animal de résister à des doses létales d'inhibiteurs de la choline-

térase (aldicarbe). Parmi les mutations isolées, certaines affectent le gène de la synaptotagmine, une protéine qui en réponse à un afflux de calcium initie le processus de fusion des vésicules (*m/s n° 8-9, vol. 9, p. 1000*). Chez les animaux dépourvus de synaptotagmine, l'exocytose des neurotransmetteurs est fortement inhibée mais pas totalement abolie [19]. Ce travail représente la première démonstration formelle du rôle de la synaptotagmine chez des animaux entiers. Une autre mutation, dans le gène codant pour un analogue d'un transporteur vésiculaire de l'acétylcholine, rend l'animal résistant à l'aldicarbe. Ce gène est essentiel à la survie de l'animal [20].

C. elegans possède vingt-six neurones utilisant le GABA comme neurotransmetteur. Parmi eux, dix-neuf sont nécessaires pour coordonner la contraction alternée des muscles dorsaux et ventraux, deux pour coordonner le cycle de défécation (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1275*, [21]). L'ablation sélective des premiers fait que si on touche l'animal sur la tête, celui-ci contracte tous ses muscles simultanément au lieu de reculer, ce qui est en accord avec l'idée que le GABA est un neurotransmetteur inhibiteur [21]. L'ablation sélective des derniers rend l'animal fortement constipé, ce qui suggère que le GABA pourrait avoir aussi une action stimulante [21]. Quatre gènes impliqués dans le fonctionnement du GABA ont été identifiés par des méthodes génétiques. Les mutants dépourvus de l'activité de ces gènes ont été soumis à des tests pharmacologiques de sensibilité à un agoniste du GABA (le muscimol) ou à un inhibiteur de l'endocytose (l'acide nipécotique). Ces tests ont montré que l'expression de trois de ces gènes entraîne un effet présynaptique et le dernier un effet postsynaptique [22]. La nature de produits codés par ces gènes n'est pas encore connue; l'un d'entre eux pourrait coder pour l'acide glutamique décarboxylase et un autre pour une sous-unité d'un récepteur

du type GABA_A (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1275, [22]*). Nul doute que la poursuite de ce travail permette d'identifier la nature du récepteur activé par le GABA et les autres protéines impliquées dans la réponse au GABA.

Mort cellulaire programmée (apoptose)

Plusieurs cellules de l'animal meurent d'apoptose au cours du développement. Des mutations bloquant la mort programmée ont été isolées. Les gènes identifiés par ces mutations ont été groupés en deux catégories. Trois gènes (appelés *ced-9, ced-3* et *ced-4*) sont nécessaires à l'initiation de l'apoptose ; huit gènes sont impliqués dans l'élimination des débris des cellules ayant subi la mort programmée ; un gène code pour une endonucléase qui dégrade l'ADN des cellules mortes [23]. Les gènes *ced-3* et *ced-4* agissent dans la cellule qui doit mourir, ce qui montre que ces cellules ne sont pas éliminées par leurs voisines mais plutôt qu'elles « se suicident » [24, 25]. L'étude des gènes *ced-9, ced-3* et *ced-4* montre une remarquable conservation des gènes impliqués dans l'apoptose, de *C. elegans* aux vertébrés. Le gène *ced-9* se comporte comme un analogue fonctionnel du gène *bcl-2* [26] impliqué dans l'apoptose chez les vertébrés (*m/s n° 1, vol. 7, p. 84, [27]*). La fonction du gène *ced-9* est de protéger les cellules contre le programme d'apoptose. De même, l'expression de *bcl-2* chez *C. elegans* bloque la mort programmée [28]. Les gènes *ced-3* et *ced-4* agissent en aval de *ced-9* et pourraient coder pour l'activité cytotoxique [29]. En effet, le gène *ced-3* présente une analogie de séquence avec l'enzyme de conversion de l'IL-1 β (ICE) de souris, une protéase à cystéine impliquée dans la maturation du précurseur de la lymphokine IL-1 β (*m/s n° 2, vol. 10, p. 232, [29]*). L'expression de l'ICE de souris ou de la protéine CED-3 du nématode dans des fibroblastes en culture provoque la mort programmée de ces derniers [30]. D'autres

gènes agissent en amont de *ced-9* et correspondent à des gènes spécifiant le devenir des cellules devant mourir [23]. L'extraordinaire conservation des protéines impliquées dans l'apoptose au cours de l'évolution permet de fonder beaucoup d'espoirs sur *C. elegans* et les possibilités qu'apporte l'analyse génétique chez cet animal.

Conclusion

C. elegans permet d'aborder pratiquement tous les problèmes touchant au développement et au fonctionnement du système nerveux, depuis la différenciation des cellules nerveuses, la migration des axones pionniers, le choix des partenaires synaptiques, l'identification des récepteurs sensoriels, jusqu'au fonctionnement de la synapse. Il paraît d'ores et déjà certain que les principes qui auront été acquis chez *C. elegans* seront de portée générale. Par exemple, les gènes *unc-86* et *mec-3* définissent une sous-classe de protéines à homéoboîtes, les protéines possédant un domaine POU ou LIM (*voir glossaire*), qui existent chez les vertébrés et que l'on retrouve en particulier dans leur système nerveux. *C. elegans* s'est déjà imposé comme système expérimental dans le domaine de la biologie du développement. Dans l'opinion de l'auteur de cet article, l'apport de *C. elegans* à l'étude du système nerveux devrait s'avérer encore plus important dans le futur que son apport à la biologie du développement ■

Michel Labouesse

Inserm U. 184, faculté de médecine, 11, rue Humann, 67085 Strasbourg Cedex, France.

RÉFÉRENCES

1. Sulston J E, Schierenberg E, White JG, Thomson JN. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 1983 ; 100 : 64-119.
2. White JG, Southgate E, Thomson JN, Brenner S. The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Phil Trans R Acad Sci* 1986 ; 314 : 1-341.
3. Chalfie M, Au M. Genetic control of differentiation of the touch receptor neurons. *Science* 1989 ; 243 : 1027-33.
4. Way JC, Chalfie M. *mec-3*, a homeobox-containing gene that specifies differentiation of the touch receptor neurons in *C. elegans*. *Cell* 1988 ; 54 : 5-16.
5. Finney M, Ruvkun G. The *unc-86* gene product couples cell lineage and cell identity in *C. elegans*. *Cell* 1990 ; 63 : 895-905.
6. Xue D, Finney M, Ruvkun G, Chalfie M. Regulation of the *mec-3* gene by the *C. elegans* homeoproteins UNC-86, MEC-3. *EMBO J* 1992 ; 11 : 4969-79.
7. Way J, Wang L, Run JQ, Wang A. The *mec-3* gene contains cis-acting elements mediating positive and negative regulation in cells produced by asymmetric cell division in *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev* 1991 ; 5 : 2199-211.
8. Mitani S, Hu H, Hall DH, Driscoll M, Chalfie M. Combinatorial control of touch receptor neuron expression in *Caenorhabditis elegans*. *Development* 1993 ; 119 : 773-83.
9. McIntire SL, Garriga G, White J, Jacobson D, Horvitz HR. Genes necessary for directed axonal elongation and fasciculation in *Caenorhabditis elegans*. *Neuron* 1992 ; 8 : 307-22.
10. Hedgecock EM, Culotti JG, Hall DH. The *unc-5, unc-6, and unc-40* genes guide circumferential migrations of pioneer axons and mesodermal cells on the epidermis in *C. elegans*. *Neuron* 1990 ; 6 : 61-85.
11. Ishii N, Wadsworth WC, Stern BD, Culotti JG, Hedgecock EM. UNC-6, a laminin-related protein, guides cell and pioneer axon migrations in *C. elegans*. *Neuron* 1992 ; 9 : 873-81.
12. Leung-Hagesteijn C, Spence AM, Stern BD, Zhou Y, Su MW, Hedgecock EM, Culotti JG. UNC-5, a transmembrane protein with immunoglobulin and thrombospondin type I domains, guides cell and pioneer axon migrations in *C. elegans*. *Cell* 1992 ; 71 : 289-99.
13. White JG, Southgate E, Thomson JN. Mutations in the *Caenorhabditis elegans unc-4*

gene alter the synaptic input to ventral cord motor neurons. *Nature* 1992 ; 355 : 838-41.

14. Miller DM, Shen MM, Shamu CE, Burglin TR, Ruvkun G, Dubois ML, Ghee M, Wilson L. *C. elegans unc-4* gene encodes a homeodomain protein that determines the pattern of synaptic input to specific motor neurons. *Nature* 1992 ; 355 : 841-5.

15. Bargmann CI, Horvitz HR. Chemosensory neurons with overlapping functions direct chemotaxis to multiple chemicals in *C. elegans*. *Neuron* 1991 ; 7 : 729-42.

16. Bargmann CI, Hartwig E, Horvitz HR. Odorant-selective genes and neurons mediate olfaction in *C. elegans*. *Cell* 1993 ; 74 : 515-27.

17. Kaplan JM, Horvitz HR. A dual mechanosensory and chemosensory neuron in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 2227-31.

18. Bargmann CI, Thomas JH, Horvitz HR. Chemosensory cell function in the behavior and development of *Caenorhabditis elegans*. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1990 ; 55 : 529-38.

19. Nonet ML, Grundahl K, Meyer BJ, Rand JB. Synaptic function is impaired but not eliminated in *C. elegans* mutants lacking synaptotagmin. *Cell* 1993 ; 73 : 1291-305.

20. Alfonso A, Grundahl K, Duerr JS, Han HP, Rand JB. The *Caenorhabditis elegans unc-17* gene : a putative vesicular acetylcholine transporter. *Science* 1993 ; 261 : 617-9.

21. McIntire SL, Jorgensen E, Kaplan J, Horvitz HR. The GABAergic nervous system of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1993 ; 364 : 337-41.

22. McIntire SL, Jorgensen E, Horvitz HR. Genes required for GABA function in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1993 ; 364 : 334-7.

23. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol* 1991 ; 7 : 663-98.

24. Yuan Y, Horvitz HR. The *Caenorhabditis elegans* genes *ced-3* and *ced-4* act cell-autonomously to cause programmed cell death. *Dev Biol* 1990 ; 138 : 33-41.

25. Golstein P. Mort programmée et terrain cellulaire. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 681-8.

26. Hengartner M, Ellis RE, Horvitz HR. *Caenorhabditis elegans* gene *ced-9* protects cells from programmed cell death. *Nature* 1992 ; 356 : 494-9.

27. Kahn A, Briand P. Apoptose, une mort

programmée ou une prolifération avortée ? *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 663-6.

28. Vaux DL, Weissman IL, Kim SK. Prevention of programmed cell death in *Caenorhabditis elegans* by human *bcl-2*. *Science* 1993 ; 258 : 1775-80.

29. Yuan J, Shaham S, Ledoux S, Ellis HM, Horvitz HR. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 β -converting enzyme. *Cell* 1993 ; 75 : 641-52.

30. Miura M, Zhu H, Rotello R, Hartwig E, Yuan J. Induction of apoptosis in fibroblasts by IL-1 β -converting enzyme, a mammalian homolog of the *C. elegans* cell death gene *ced-3*. *Cell* 1993 ; 75 : 653-60.

31. Perkins LA, Hedgecock EM, Thomson JN, Culotti JG. Mutant sensory cilia in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 1986 ; 117 : 456-87.

32. Herr W, Sturm RA, Clerc RG, Corcoran LM, Baltimore D, Sharp PA, Ingraham HA, Rosenfeld MG, Finney M, Ruvkun G, et al. The POU domain : a large conserved region in the mammalian *pit-1*, *oct-1*, *oct-2* and *Caenorhabditis elegans unc-86* gene products. *Genes Dev* 1988 ; 2 : 1513-6.

33. Freyd G, Kim SK, Horvitz HR. Novel cysteine-rich motif and homeodomain in the product of the *Caenorhabditis elegans* cell lineage gene *lin-11*. *Nature* 1990 ; 344 : 876-9.

* GLOSSAIRE *

GABA : neurotransmetteur (acide gamma-aminobutyrique).

FMRFamide : neuropeptide (phénylalanine-méthionine-arginine-phénylalanine-NH₂).

POU : domaine de fixation à l'ADN, toujours trouvé associé à une homéoboîte [32] ; ce domaine a d'abord été identifié dans les gènes *pit-1* (qui contrôlent le développement de la glande pituitaire), *oct-1* et *oct-2* (qui contrôlent la transcription des gènes des immunoglobulines) et *unc-86* (qui est brièvement décrit dans le texte).

LIM : domaine de fixation à l'ADN comportant plusieurs cystéines, toujours trouvé associé à une homéoboîte [33] ; ce domaine a d'abord été identifié dans les gènes *lin-11* (qui contrôle la formation de la vulve chez *C. elegans*), *isl-1* (qui contrôle la transcription du gène de l'insuline et qui est également exprimé dans le tube neural) et *mec-3* (qui est brièvement décrit dans le texte).

unc : gène dont la mutation provoque une mauvaise coordination des mouvements (*uncoordinated* en anglais) ; la dénomination *unc* est une désignation opérationnelle qui ne préjuge en rien de la nature du gène et du mécanisme concernés (plusieurs exemples de cette diversité sont donnés dans le texte).

mec : gène dont la mutation affecte la réponse mécanosensorielle associée aux cellules mécanosensorielles.

lin : gène dont la mutation affecte la division de certaines cellules (lineage en anglais) ; tout comme pour les gènes *unc*, la dénomination *lin* ne préjuge en rien de la nature du gène et du mécanisme concernés.

ced : gène dont la mutation affecte le processus de mort cellulaire programmée (programmed cell death en anglais).

TIRÉS A PART

M. Labouesse.