

Contrôle de l'orientation du fuseau mitotique lors de divisions asymétriques

Au cours de l'embryogenèse, une multitude de types cellulaires est engendrée à partir d'une cellule unique, l'œuf fécondé. Cette diversification peut résulter de divisions asymétriques, au cours desquelles la cellule mère se divise pour donner naissance à deux cellules filles différentes. L'un des mécanismes responsables de l'établissement de cette différence d'identité cellulaire est fondé sur la ségrégation asymétrique d'un ou plusieurs facteur(s) de détermination de l'identité cellulaire. Un tel mécanisme requiert la localisation des facteurs de détermination cellulaire à un pôle de la cellule-mère. Il requiert également que le plan de division cellulaire coupe l'axe de polarité ainsi défini de manière à ce que ces facteurs soient hérités dans l'une seulement des deux cellules filles. Des études menées chez la drosophile ont permis d'identifier deux protéines, Numb et Prospero, dont la ségrégation asymétrique semble directement responsable de la différence d'identité des cellules filles [1]. Très récemment, Kraut *et al.* ont identifié une protéine, appelée Inscuteable, qui coordonne l'orientation du fuseau mitotique et la localisation asymétrique de ces facteurs de détermination cellulaire [2]. Nous analyserons ici ce qui est connu de la fonction d'Inscuteable.

Chez la drosophile, les cellules précurseurs du système nerveux central, appelées neuroblastes, apparaissent au cours de la gastrulation au sein d'un épithélium, le neuroectoderme ventral. La détermination des neuroblastes est associée à leur délamination du neuroectoderme. Après délamination, les neuroblastes ont leur face apicale en contact avec le neuroecto-

derme, tandis que leur face basale est juxtaposée au mésoderme. Les neuroblastes se divisent alors de manière asymétrique, selon un axe perpendiculaire à la surface de l'embryon, pour donner naissance à une petite cellule en position basale, la cellule mère ganglionnaire, et à un neuroblaste en position apicale (*figure 1A*).

Le gène *inscuteable* a été identifié par Kraut et Campos-Ortega du fait de son expression spécifique dans les cellules précurseurs du système nerveux central [3]. La protéine Inscuteable est nouvelle. Elle présente néanmoins des motifs impliqués dans des interactions protéine-protéine, tels que des répétitions d'un motif apparenté au motif ankyrine et un domaine d'interaction SH3. La localisation de la protéine Inscuteable a été étudiée en détail lors de la division des neuroblastes. En prophase et métaphase, Inscuteable est localisée en un croissant au pôle apical du neuroblaste. Cette accumulation est transitoire. Dès l'anaphase, l'accumulation d'Inscuteable au cortex apical n'est plus détectable, indiquant que Inscuteable est dégradée ou délocalisée [2]. La localisation transitoire d'Inscuteable au cortex apical suggère donc que cette protéine pourrait participer à l'orientation verticale du fuseau mitotique. De fait, Inscuteable est nécessaire à l'établissement de cette orientation. Dans un mutant *inscuteable*, les neuroblastes se divisent selon une orientation aléatoire : l'information de polarité apico-basale du neuroblaste semble perdue (*figure 1B*) [2]. Enfin, la présence d'Inscuteable peut suffire à déterminer l'orientation verticale de la division. Les cellules de l'ectoderme n'expriment pas Inscuteable

et se divisent parallèlement à la surface de l'embryon. Lorsque Inscuteable est exprimée de manière ectopique dans ces cellules, Inscuteable s'accumule au cortex apical et induit une réorientation du fuseau mitotique selon l'axe apico-basal de ces cellules (*figure 1C*); [2]. Ces expériences montrent que la protéine Inscuteable interprète la polarité apico-basale des cellules et oriente la division selon cet axe de polarité.

Inscuteable est également nécessaire à la localisation polarisée des facteurs de détermination cellulaire Numb et Prospero [2]. Lors de la division des neuroblastes, Numb et Prospero sont localisées au pôle basal et ségrègent dans la cellule mère ganglionnaire (*figure 1A*) [4-6]. Dans un mutant *inscuteable*, la plupart (74 %) des neuroblastes présentent une localisation polarisée de Numb et Prospero. Cependant, le croissant d'accumulation de ces deux protéines est localisé de manière aléatoire par rapport à la polarité apico-basale du neuroectoderme. De surcroît, la position de ce croissant est indépendante de l'orientation du fuseau mitotique, elle-même aléatoire (*figure 1B*). Ces résultats ont plusieurs implications. Tout d'abord, ils indiquent que l'accumulation en croissant de Numb et Prospero ne dépend pas d'Inscuteable. L'accumulation de Numb et Prospero ne résulte donc pas d'une simple exclusion de ces protéines du pôle apical par Inscuteable. Ensuite, la localisation basale de Numb et Prospero n'est pas directement contrôlée par l'orientation du fuseau mitotique. Enfin, Inscuteable est nécessaire à la localisation du croissant de Numb et Prospero au pôle basal du neuroblaste.

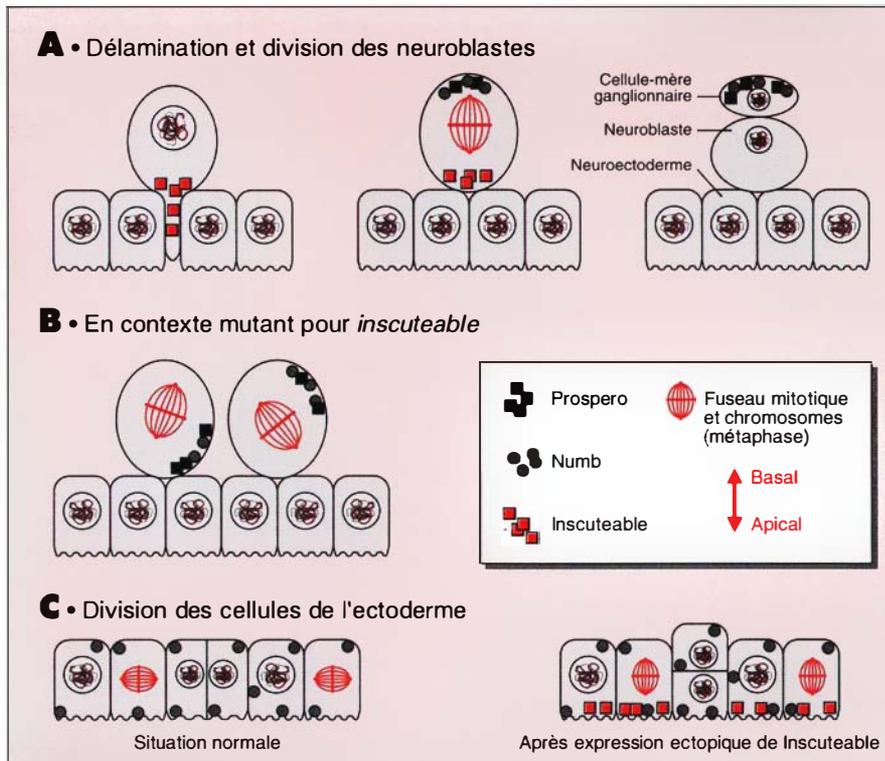


Figure 1. **Contrôle de l'orientation du fuseau mitotique lors de divisions asymétriques.** **A.** Division des neuroblastes. Après délamination du neuroectoderme, la cellule se divise selon un axe apico-basal de façon asymétrique, donnant naissance, en position basale, à une cellule-mère ganglionnaire et, en position apicale, à un neuroblaste. La protéine *Inscuteable* est concentrée transitoirement dans le cortex apical. Les protéines *Prospero* et *Numb* se concentrent au pôle basal et ségrègent dans la cellule-mère ganglionnaire. **B.** Dans un mutant *inscuteable*, les neuroblastes se divisent selon une orientation aléatoire ; les protéines *Numb* et *Prospero* sont colocalisées, mais de façon indépendante de l'orientation du fuseau mitotique. **C.** Expression ectopique de *inscuteable* : les cellules de l'ectoderme, qui n'expriment pas *inscuteable*, se divisent parallèlement à la surface de l'embryon. Après expression ectopique d'*inscuteable* dans ces cellules, la protéine se concentre dans le cortex apical et induit une réorientation du fuseau mitotique selon l'axe cellulaire apico-basal. En revanche, la distribution de *Numb* reste uniforme, indiquant qu'elle ne dépend pas directement d'*Inscuteable*.

En revanche, l'expression d'*inscuteable* ne semble pas suffisante pour diriger la localisation basale de *Numb*. En effet, l'expression ectopique d'*inscuteable* dans les cellules de l'ectoderme, qui présentent une distribution uniforme de *Numb*, n'induit pas une redistribution de *Numb* au cortex basal (figure 1C); [2]. Enfin, la protéine *Inscuteable* ne semble ni nécessaire ni suffisante pour produire une différence de taille entre les deux cellules filles :

dans un mutant *inscuteable*, la division des neuroblastes produit une grande et une petite cellule [2]. Cela indique que la protéine *Inscuteable* participe à l'interprétation de certains aspects seulement de la polarité cellulaire, préexistante à l'expression d'*inscuteable*.

Ces travaux montrent que la protéine *Inscuteable* agit à deux niveaux. D'une part, elle oriente le fuseau mitotique le long de l'axe apico-basal et, d'autre part, contrôle la localisa-

tion des déterminants cellulaires au pôle basal.

Le mécanisme par lequel *Inscuteable* interprète l'information de polarité apico-basale du neuroblaste est inconnu. Le fait que l'expression ectopique d'*inscuteable* dans l'ectoderme s'accompagne de la localisation de son produit au cortex apical montre que cette information de polarité est présente dans toutes les cellules du neuroectoderme. Cela suggère donc que l'information de polarité du neuroblaste pourrait être directement héritée de la polarité des cellules épithéliales du neuroectoderme. Cette information dépend de l'intégrité du réseau de microfilaments d'actine, car la dépolymérisation des microfilaments entraîne une disparition du croissant d'*Inscuteable*. Cette délocalisation d'*Inscuteable* expliquerait l'orientation aléatoire du croissant de *Numb* et *Prospero* observée dans les mêmes conditions de dépolymérisation des microfilaments [6].

De même, le mécanisme par lequel *Inscuteable* contrôle l'orientation du fuseau mitotique et coordonne son alignement avec la distribution polarisée de *Numb* et *Prospero* n'est pas connu. *Inscuteable* pourrait participer à la mise en place d'un site d'attachement cortical pour les microtubules. Ce site aurait pour rôle de positionner l'un des deux centrosomes au pôle apical et de spécifier ainsi l'orientation du fuseau mitotique. Quant à la distribution de *Numb* et *Prospero* au pôle basal, *Inscuteable* agirait à distance par un mécanisme encore inconnu, mais qui ne semble pas impliquer les microtubules, puisque la localisation de *Numb* et *Prospero* au pôle basal ne dépend pas de l'intégrité du réseau de microtubules [6].

L'étude des facteurs contrôlant la localisation polarisée des déterminants cellulaires chez la drosophile, le nématode [7] et la levure [8] n'a pas encore permis de révéler de similitudes au niveau moléculaire [9], ce qui suggère que, soit ces facteurs ont des fonctions similaires mais des structures différentes, soit les gènes homologues restent à identifier. L'étude d'*Inscuteable* chez la drosophile a dévoilé une stratégie fonda-

mentale coordonnant l'orientation du fuseau mitotique et la ségrégation asymétrique de déterminants cellulaires, fondée sur l'existence d'une molécule contrôlant en parallèle ces deux processus.

M.G.
F.S.

1. Schweisguth F. Ségrégation asymétrique de régulateurs de l'identité cellulaire lors de la mitose. *Med Sci* 1996 ; 12 : 203-6.
2. Kraut R, Chia W, Jan LY, Jan YN, Knoblich JA. Role of *inscuteable* in orienting asymmetric cell divisions in *Drosophila*. *Nature* 1996 ; 383 : 50-5.
3. Kraut R, Campos-Ortega JA. *inscuteable*, a neural precursor gene of *Drosophila*, encodes a candidate for a cytoskeleton adaptor protein. *Dev Biol* 1996 ; 174 : 65-81.
4. Spana E, Doe CQ. The Prospero transcription factor is asymmetrically localized to the cell cortex during neuroblast mitosis in *Drosophila*. *Development* 1995 ; 121 : 3187-95.
5. Hirata J, Nakagoshi H, Nabeshima Y, Matsuzaki F. Asymmetric segregation of the homeodomain protein Prospero during *Drosophila* development. *Nature* 1995 ; 377 : 627-30.
6. Knoblich JA, Jan LY, Jan YN. Asymmetric segregation of Numb and Prospero during cell division. *Nature* 1995 ; 377 : 624-7.
7. Guo S, Kempthues KJ. Molecular genetics of asymmetric cleavage in the early *Caenorhabditis elegans* embryo. *Curr Opin Genet Dev* 1996 ; 6 : 408-15.
8. Chant J. Generation of cell polarity in yeast. *Curr Opin Cell Biol* 1996 ; 8 : 557-65.
9. Gönczy P, Hyman AA. Cortical domains and the mechanisms of asymmetric cell division. *Trends Cell Biol* 1996 ; 6 : 382-7.

■■■ Le produit du gène *SCL/TAL-1* est indispensable au développement de l'ensemble des lignées hématopoïétiques. L'oncogène *SCL/TAL-1* est impliqué dans certains remaniements chromosomiques récurrents des leucémies aiguës lymphoblastiques T (LAL-T). Des modèles transgéniques ont récemment permis de confirmer le rôle de l'expression inappropriée de ce gène dans le processus leucémogène [1, 2]. L'oncoprotéine SCL est un facteur de transcription à motifs domaine basique et hélice-boucle-hélice (b-HLH), très précocement exprimé dans l'hématopoïèse embryonnaire. L'expression de *SCL* persiste après la naissance, notamment dans les cellules souches multipotentes et dans les progéniteurs hématopoïétiques, mais s'éteint dans les cellules mûres myélo-monocytaires et lymphoïdes. L'année dernière, les groupes de S. Orkin et de G. Begley avaient montré que la délétion homozygote du gène *scl* murin s'accompagnait d'une absence totale de cellules hématopoïétiques dans la vésicule vitelline (un site classique de l'hématopoïèse embryonnaire précoce), provoquant rapidement la mort des embryons par anémie. Afin d'analyser le rôle du facteur de transcription dans chacune des différentes lignées hématopoïétiques, les deux équipes ont récemment effectué des expériences de différenciation *in vitro* des cellules ES *scl^{-/-}* et produit des animaux chimères [3, 4]. De façon remarquable, la présence du gène *scl* apparaît indispensable à la production *in vitro* et *in vivo* de l'ensemble des lignées hématopoïé-

tiques: érythrocytaire, myélo-monocytaire, mégacaryocytaire, mastocytaire, et lymphoïdes T et B. L'infection des cellules embryonnaires *scl^{-/-}* par un vecteur rétroviral rétablissant la production de la protéine restaure la capacité de différenciation hématopoïétique des cellules *in vitro* (obtenue par incubation avec les facteurs de croissance appropriés en milieu semi-solide) [4]. Parmi les nombreux facteurs de transcription actuellement connus et impliqués dans la différenciation hématopoïétique (GATA-2, PU.1, AML-1, ALL-1, c-myb, Ikaros...), seul le facteur SCL apparaît indispensable à la production de l'ensemble des lignées hématopoïétiques. Par ailleurs le mode d'action de SCL est certainement complexe: des interactions protéiques multiples pouvant intéresser SCL, LMO2 (le produit de l'oncogène *LMO2*, auparavant appelé *Rbtn2* ou *Tig2*, impliqué lui aussi dans des LAL-T), des protéines à motif HLH de la famille E (dont E2A produit du gène *E47*) et d'autres facteurs, dont GATA-2, déterminent probablement la formation de complexes protéiques régulateurs en *trans*, de composition variable selon le stade de différenciation des cellules hématopoïétiques et de la lignée concernée [1, 2].

- [1. Larson RC, et al. *EMBO J* 1996 ; 15 : 1021-7.]
- [2. Kelliher MA, et al. *EMBO J* 1996 ; 15 : 5160-6.]
- [3. Porcher C, et al. *Cell* 1996 ; 86 : 47-57.]
- [4. Robb L, et al. *EMBO J* 1996 ; 15 : 4123-9.]

m/s

À PARAÎTRE

n° 3

Vol. 13

Mars 97

**Numéro
thématique
« Greffes »**

m/s

À PARAÎTRE

n° 2 - vol. 13 - Février 97

Les francophones d'Amérique