
Marcel Dorée

RÉFÉRENCES

1. Norbury CJ, Nurse P. Control of the higher eukaryote cell cycle by p34^{cdc2} homologues. *Biochim Biophys Acta* 1989 ; 989 : 85-95.
2. Kishimoto T. Regulation of metaphase by a maturation-promoting factor. *Dev Growth Differ* 1988 ; 30 : 105-15.
3. Labbé JC, Capony JP, Caput D, et al. MPF from starfish oocytes at first meiotic metaphase is a heterodimer containing one molecule of cdc2 and one molecule of cyclin B. *EMBO J* 1989 ; 8 : 3053-8.
4. Pines J, Hunter T. Isolation of a human cyclin cDNA : evidence for cyclin mRNA and protein regulation in the cell cycle and for interaction with p34^{cdc2}. *Cell* 1989 ; 58 : 833-46.
5. Murray AW, Kirschner MW. Cyclin synthesis drives the early embryonic cell cycle. *Nature* 1989 ; 339 : 275-80.
6. Cyert MS, Thorner J. Putting it on and taking it off : phosphoprotein phosphatase involvement in cell cycle regulation. *Cell* 1989 ; 57 : 891-3.
7. Sagata N, Oskarsson M, Copeland T, Brumbaugh J, Van de Woude GF. Function of c-mos proto-oncogene product in meiotic maturation in *Xenopus* oocytes. *Nature* 1988 ; 335 : 519-25.
8. Shenoy S, Choi JK, Bagrodia S, Copeland TP, Maller JL, Shalloway D. Purified maturation promoting factor phosphorylates pp60^{c-src} at the sites phosphorylated during fibroblast mitosis. *Cell* 1989 ; 577 : 763-74.
9. Bellé R, Derancourt J, Poulhe R, Capony JP, Ozon R, Mulner-Lorillon O. A purified complex from *Xenopus* oocytes contains a p47 protein, an *in vivo* substrate of MPF, and a p30 protein respectively homologous to elongation factors EF-1 γ and EF-1 β . *FEBS Lett* 1989 ; 225 : 101-4.
10. McVey D, Brizuela L, Mohr L, Marshak Dr, Gluzman Y, Beach D. Phosphorylation of large tumor antigen by cdc2 stimulates SV40 DNA replication. *Nature* 1989 ; 341 : 503-7.

LE COMPLEXE CDC2-CYCLINE : UN FACTEUR UNIVERSEL POUR L'ENTRÉE EN MITOSE

Le cycle cellulaire des eucaryotes comporte trois stades de transition majeurs : la conversion de l'état quiescent à l'état prolifératif, l'initiation de la synthèse de l'ADN dans les cellules en croissance et l'induction de l'entrée en phase M (mitose ou méiose) dans les cellules ayant répliqué leur génome. Il est maintenant établi que ces événements clés du cycle cellulaire sont sous le contrôle d'un réseau de facteurs de régulation. Récemment une description en termes moléculaires des mécanismes qui contrôlent l'entrée en phase M vient d'émerger. Deux stratégies distinctes mais maintenant convergentes ont été utilisées. La première s'est appuyée sur une analyse génétique classique chez la levure, conduisant à l'isolement de mutants pour des gènes requis pour la mitose mais pas pour la croissance cellulaire (mutants *cdc* : *cell division cycle*). Il semble qu'un nombre très limité de gènes *cdc* soit impliqué dans le contrôle de l'entrée en mitose. Ils forment un réseau où *cdc2*⁺ agit en aval des autres gènes. Le gène *cdc2*⁺ code pour une protéine kinase conservée de la levure à l'homme [1]. L'autre stratégie utilise les ovocytes, qui dans le règne animal sont naturellement arrêtés en prophase de première division de méiose. Sous l'influence d'une variété de signaux, les ovocytes au terme de leur croissance entrent en métaphase. L'action de ces signaux est indirecte : ils induisent l'activation d'un facteur d'entrée en phase M (MPF : *M-phase promoting factor*) qui à son tour déclenche les événements cytologiques et biochimiques caractérisant la phase M. Ce facteur, présent dans toute cellule en phase M, ne présente pas de spécificité zoologique, et il est capable d'induire l'entrée en phase M de toute cellule, par micro-injection ou fusion cellulaire [2].

MPF a récemment été purifié à partir d'ovocytes de crapaud et d'étoile de mer. Il a d'abord été montré qu'il contient une protéine homologue du produit du gène *cdc2*⁺ de la levure, qui lui confère une activité protéine kinase, puis établi qu'il s'agit d'un hétérodimère contenant une molécule de *cdc2* et une molécule de cycline [3]. Les cyclines avaient été découvertes il y a quelques années dans les embryons d'invertébrés marins en tant que protéines s'accumulant en interphase mais rapidement dégradées à la fin de la mitose. Chez la levure, le gène *cdc13*⁺ code pour un produit appartenant à la famille des cyclines et requis pour l'entrée en mitose. Le gène codant pour une cycline a également été récemment cloné chez l'homme [4].

La synthèse de cycline est requise pour permettre l'activation périodique de MPF et par conséquent la condensation des chromosomes, la mise en place d'un fuseau mitotique et la rupture de l'enveloppe nucléaire. Des systèmes acellulaires ont été mis au point à partir d'œufs de crapaud permettant d'induire ces événements *in vitro*. Ils ont permis de montrer que la seule

synthèse protéique requise pour permettre le maintien des oscillations entre état interphasique et état mitotique est celle de cycline [5].

Bien que la cycline soit nécessaire à l'activation de la kinase mitotique, elle ne suffit pas. Il paraît clair maintenant que cette activation est provoquée par la déphosphorylation de la sous-unité *cdc2* au niveau de résidus tyrosine, sérine et thréonine [1]. La ou les phosphatases responsables de la déphosphorylation de *cdc2* n'ont pas encore été identifiées. Le rôle potentiel des phosphatases dans la régulation du cycle cellulaire avait jusqu'ici été largement ignoré, mais vient d'être remis en lumière par des travaux génétiques récents [6]. La sérine-thréonine kinase codée par le proto-oncogène cellulaire *c-mos* semble également contrôler positivement la cascade conduisant à l'activation de MPF, au moins au cours de la méiose [7].

Le mécanisme de dégradation de la cycline, nécessaire à la sortie de la phase M, n'est pas encore élucidé. On peut simplement supposer que cette dégradation est contrôlée par la kinase mitotique elle-même, puisque l'addition de cette kinase à des extraits interphasiques suffit à induire plusieurs cycles successifs d'oscillation entre mitose et interphase. On peut ainsi concevoir que MPF se trouve au centre d'un système oscillant rétrocontrôlé. Dans un tel système, la cycline s'accumule progressivement, et lorsqu'elle a atteint un niveau suffisant, la déphosphorylation de *cdc2* provoque l'activation de la kinase mitotique MPF. A son tour l'activité de la kinase mitotique provoquerait la destruction de la cycline après une phase de latence. Cette phase de latence est essentielle pour permettre l'alignement des chromosomes sur la plaque métaphasique.

Puisque l'addition de MPF pur est suffisante pour déclencher tous les événements de la mitose, en particulier dans des systèmes acellulaires, il est clair qu'il contrôle tous ces événements, directement ou indirectement. MPF constitue donc un outil

puissant pour étudier le déterminisme de phénomènes caractéristiques de la mitose tels que la fragmentation des réseaux de membranes intracellulaires ou le remodelage de l'architecture du cytosquelette. Pourtant on connaît encore peu de substrats spécifiques de cette kinase mitotique. Récemment, il a été montré que pp60^{c-src}, le produit de l'homologue cellulaire de l'oncogène *v-src*, est un substrat de MPF, *in vivo* et *in vitro* [8]. Cela suggère que pp60^{c-src} pourrait être le médiateur de certains effets de MPF, en particulier au niveau du cytosquelette. Il a également été montré que MPF phosphoryle *in vivo* et *in vitro* la sous-unité γ du facteur d'élongation EF-1 [9]. Il faut s'attendre à ce que le nombre des substrats de la kinase MPF s'accroisse dans de larges proportions dans un proche avenir.

Chez la levure *S. pombe*, le produit du gène *cdc2+* est requis, non seulement pour permettre l'entrée en phase M, mais également pour passer le point *start* qui précède la réplication de l'ADN. Il est logique de penser qu'il en va de même chez les organismes supérieurs, bien que la preuve n'en ait pas été donnée. Chez les mammifères, la période qui précède la synthèse d'ADN peut être divisée en deux parties. Une phase précoce où la suppression du sérum, ou une inhibition modérée de la synthèse protéique, provoque l'arrêt du cycle cellulaire, et une phase tardive où l'entrée des cellules dans la période de réplication de l'ADN devient largement indépendante du sérum et de la synthèse protéique. La transition entre les deux phases pourrait correspondre au point *start* du cycle cellulaire de la levure contrôlée par *cdc2*.

Diverses protéine kinases jouent un rôle dans la transduction des signaux fournis par les facteurs de croissance, et de nombreux oncogènes ont été identifiés comme étant des protéine kinases, mais il est vraisemblable que ces protéine kinases exercent leur effet en amont du point *start*.

La nature biochimique de cette transition est actuellement inconnue, et

même si elle dépend de *cdc2*, il n'est pas certain que la protéine exerce sa fonction de contrôle par l'intermédiaire de son activité kinase. On pourrait en effet envisager que *cdc2* contrôle le point *start* par le biais d'une interaction structurale, par exemple avec un anti-oncogène. Une telle interaction structurale inductrice de l'entrée en phase S (suppression d'une inhibition) pourrait être rendue possible au moment du *start* par une modification post-traductionnelle de *cdc2*, faisant intervenir par exemple une kinase activée par un facteur de croissance. On ne connaît en effet actuellement aucun substrat spécifique de l'entrée en phase S pour la kinase *cdc2*. Il vient cependant d'être montré que l'antigène T du virus SV40 est un substrat de *cdc2* [10]. Cet antigène est requis pour l'initiation de la réplication de l'ADN du virus. Sous sa forme déphosphorylée, il est incapable d'induire la réplication de l'ADN. Phosphorylé *in vitro* par la kinase *cdc2*, il acquiert cette propriété. Bien que ces expériences aient été réalisées en utilisant la kinase extraite de cellules en mitose, et non en phase S, et qu'elles ne fournissent pas d'information directe quant au rôle possible de *cdc2* dans l'initiation de la réplication de l'ADN cellulaire, on peut penser qu'une protéine, ou un complexe de protéines, joue dans la cellule normale le rôle que joue l'antigène T dans la réplication de l'ADN viral. La phosphorylation et l'activation de tels éléments de contrôle de la réplication pourraient constituer un stade critique de l'initiation de la synthèse de l'ADN cellulaire ■

ADRESSE

M. Dorée : professeur à l'université de Montpellier I. Service de biochimie, Cnrs/Inserm, BP 5 051, 34033 Montpellier Cedex, France.

TIRÉS A PART

M. Dorée.