

L'ovocyte de souris et les particularités des divisions méiotiques

La méiose, qui permet la production des cellules germinales haploïdes, comporte deux divisions, la première séparant les chromosomes homologues, et la seconde, les chromatides sœurs. Les études effectuées sur les ovocytes de différentes espèces, en particulier la souris, ont permis de déterminer les spécificités des divisions

méiotiques, notamment les mécanismes gouvernant la maturation méiotique, la formation du fuseau de première division de méiose, le caractère asymétrique de ces divisions ainsi que le processus d'arrêt de la méiose jusqu'à la fécondation. Nombre de ces processus distinguent clairement la méiose de la mitose.

La méiose est le processus qui permet la production de cellules germinales haploïdes, ovocytes et spermatozoïdes. Les ovocytes des organismes pluricellulaires ont la particularité d'être bloqués en prophase de première division méiotique (ou prophase I). L'achèvement de la méiose depuis la levée de blocage en prophase I jusqu'à la formation d'un gamète fécondable constitue le processus de maturation méiotique.

Contrairement à ce qui a été souvent écrit, on ne peut assimiler la méiose à la succession de deux mitoses (figure 1). Le matériel génétique ségrégé est en effet différent entre la première et la deuxième division méiotique : dans un cas, la cellule sépare des chromosomes homologues (première division méiotique), dans l'autre, elle sépare des chromatides sœurs (deuxième division méiotique). Ces divisions sont

asymétriques et donnent naissance à des cellules filles de tailles différentes (l'ovocyte et les globules polaires). D'autre part, la formation du fuseau de première phase M de méiose est très particulière.

De plus, la maturation méiotique est l'unique exemple de division cellulaire avec succession de deux phases M sans phase S intermédiaire. Enfin, la levée du bloc en prophase I est souvent suivie d'un deuxième arrêt,

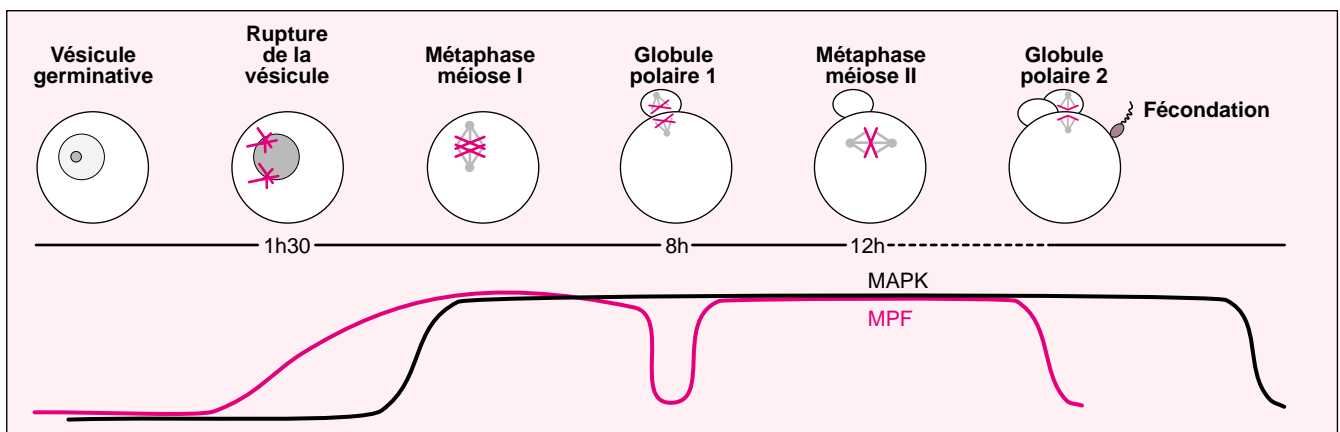


Figure 1. **La maturation méiotique chez la souris.** Au stade vésicule germinative (large noyau représenté en gris), l'ovocyte est bloqué en prophase de première division méiotique. Après la levée de ce blocage, il y a une rupture de la vésicule germinative, les chromosomes se condensent (hachures rouges) et le fuseau de méiose I se met en place (gris). Cette première phase M de méiose est très longue (8 heures). Après expulsion du premier globule polaire, la méiose II débute sans phase de réplication jusqu'au blocage en métaphase II (MII), arrêt contrôlé par le CSF (cytostatic factor). Ce blocage ne sera levé qu'au moment de la fécondation. Les microtubules apparaissent en gris ; les chromosomes sont représentés en rouge. La courbe représentant le niveau d'activité MPF (maturation promoting factor) est en rouge, celle de la MAPK (mitogen activated protein kinase) en noir.

en méiose I ou méiose II suivant les espèces. Cet arrêt permet d'augmenter la fenêtre temporelle pendant laquelle l'ovocyte peut être fécondé. Dans les ovocytes de vertébrés, cet arrêt a lieu en métaphase de deuxième division méiotique et est lié à une activité dénommée CSF pour *cytostatic factor* [1].

Dans cet article, nous traiterons certaines originalités de la maturation méiotique, qui la distinguent d'une mitose.

Une entrée en phase M ralentie

La maturation méiotique est déclenchée en réponse à des signaux extracellulaires, variables suivant les espèces, mais qui, tous, aboutissent à l'activation du MPF (*maturation promoting factor*) [1]. Cela déclenche la rupture de l'enveloppe nucléaire, la condensation des chromosomes et la mise en place du fuseau de première division de méiose (fuseau de MI). L'activation du MPF pendant la méiose I, est suivie d'une courte phase d'inactivation, puis d'une réactivation en méiose II (*figure 1*). Le MPF est un hétérodimère constitué

d'une sous-unité catalytique, la kinase Cdc 2 (ou Cdk1, pour *cyclin dependent kinase 1*) associée à une sous-unité régulatrice, la cycline B [2]. Sous forme active, elle est phosphorylée uniquement sur le résidu Thr161 (de Cdc2); deux phosphorylations inhibitrices des résidus Thr14 et Tyr15 supplémentaires la maintiennent sous une forme inactive (pré-MPF) (*figure 2*). L'activation du pré-MPF méiotique en MPF repose sur des équilibres complexes d'activités kinases et phosphatases qui aboutissent à la déphosphorylation de ces deux résidus inhibiteurs (Thr14, Tyr15) par la phosphatase Cdc25. L'activité de Cdc25 est elle-même réglée par la protéine-kinase Plk (*polo-like kinase*), qui participe au contrôle de l'entrée en phase M des cycles cellulaires mitotiques, et est activée avant la rupture de la vésicule germinative. Plk est elle-même activée par le MPF, et participe ainsi à une boucle d'amplification positive du MPF lors de la reprise de la méiose [3, 4].

Si cette activation du MPF ressemble fort à ce qui est observé pendant la mitose, il existe cependant des caractéristiques propres à la méiose. Tout d'abord, la première phase M de méiose est exceptionnellement longue (8 h chez la souris) et l'activation du MPF est, contrairement à ce qui se passe lors de la mitose, progressive et elle aboutit à un plateau (*figure 1*). Ceci est dû à la faible quantité de pré-MPF présente dans l'ovocyte immature et à la nécessité d'une synthèse progressive de cycline B afin d'augmenter la quantité de MPF et d'atteindre une activité maximale en fin de phase M méiotique. En outre, l'activation du MPF pourrait faire intervenir des protéines régulatrices spécifiques de la méiose autres que la cycline B. Ainsi, la protéine p33Ringo/Speedy, caractérisée chez le xénope [5, 6], provoque la reprise de la méiose lorsqu'elle est injectée dans des ovocytes. Des résultats similaires ont été aussi observés chez la souris. Cependant, la synthèse protéique globale n'étant pas requise pour la reprise de la méiose chez la souris, si Ringo déclenche l'activation du MPF, chez cette espèce c'est par contrôle post-traductionnel. Chez le xénope, l'inhibition de la synthèse de Ringo par micro-injection d'oligonucléotides antisens inhibe la reprise de la méiose en réponse à la progestérone [5]. Enfin, il a été montré que la protéine Ringo se lie à cdc2 et l'active *in vitro*.

Si cette activation du MPF ressemble fort à ce qui est observé pendant la mitose, il existe cependant des caractéristiques propres à la méiose. Tout d'abord, la première phase M de méiose est exceptionnellement longue (8 h chez la souris) et l'activation du MPF est, contrairement à ce qui se passe lors de la mitose, progressive et elle aboutit à un plateau (*figure 1*). Ceci est dû à la faible quantité de pré-MPF présente dans l'ovocyte immature et à la nécessité d'une synthèse progressive de cycline B afin d'augmenter la quantité de MPF et d'atteindre une activité maximale en fin de phase M méiotique. En outre, l'activation du MPF pourrait faire intervenir des protéines régulatrices spécifiques de la méiose autres que la cycline B. Ainsi, la protéine p33Ringo/Speedy, caractérisée chez le xénope [5, 6], provoque la reprise de la méiose lorsqu'elle est injectée dans des ovocytes. Des résultats similaires ont été aussi observés chez la souris. Cependant, la synthèse protéique globale n'étant pas requise pour la reprise de la méiose chez la souris, si Ringo déclenche l'activation du MPF, chez cette espèce c'est par contrôle post-traductionnel. Chez le xénope, l'inhibition de la synthèse de Ringo par micro-injection d'oligonucléotides antisens inhibe la reprise de la méiose en réponse à la progestérone [5]. Enfin, il a été montré que la protéine Ringo se lie à cdc2 et l'active *in vitro*.

Les particularités du fuseau méiotique

L'ovocyte de souris, qui est petit (80 µm de diamètre comparé à 1,2 mm pour l'ovocyte de xénope) et transparent, constitue un modèle très favorable aux études morphologiques. Chez la souris, parallèlement à l'augmentation d'activité du MPF, le fuseau de MI se met en place de manière très originale : il est en effet dépourvu de centrioles et les fibres kinétochoriales reliant les microtubules du fuseau aux kinétochores des chromosomes n'apparaissent que tardivement au cours de cette première division méiotique (7 h après rupture de la vésicule germinative) [7].

On sait qu'au cours de la mitose, la duplication des centrosomes et leur migration de part et d'autre de l'enveloppe nucléaire définissent la

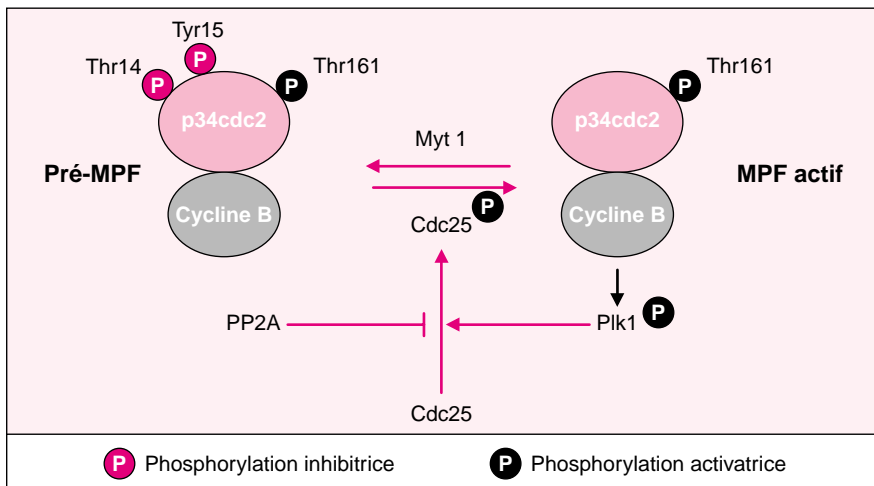


Figure 2. **Conversion du pré-MPF en MPF lors de la reprise de la méiose.** Le MPF est constitué d'une sous-unité régulatrice, la cycline B, et d'une sous-unité catalytique, p34cdc2. Sous forme inactive, appelée pré-MPF, la sous-unité p34cdc2 est phosphorylée sur les résidus Thr14 et Tyr15. C'est la déphosphorylation de ces deux sites par la phosphatase cdc25, qui permet l'activation du pré-MPF en MPF actif. Les phosphorylations inhibitrices sont symbolisées par des ronds rouges et activatrices par des ronds noirs. Kinase inhibitrice : Myt1 ; phosphatase activatrice : Cdc25 ; phosphatase inhibitrice PP2A : phosphatase 2A ; kinase activatrice Plk1 : Polo kinase 1.

bipolarité et l'orientation du fuseau de division. L'alignement des chromosomes sur la plaque métaphasique est réalisé grâce aux forces exercées par les moteurs associés aux microtubules s'attachant principalement aux kinétochores. Il existe aussi une force qui repousse les chromosomes vers le centre du fuseau et qui est exercée par des microtubules interagissant avec les bras des chromosomes.

Au cours de la méiose I, les centrosomes (appelés aussi MTOC pour *microtubule organising centers*), dont le nombre est variable, sont dépourvus de centrioles et sont répartis autour de la vésicule germinative (le noyau de l'ovocyte). Après rupture de cette dernière, ces MTOC vont nucléer des faisceaux de microtubules autour des chromosomes qui, par coalescence, établiront l'axe du fuseau. La formation d'une structure bipolaire autour des chromosomes constitue une propriété intrinsèque du cytoplasme de ces ovocytes, mais la nature des moteurs moléculaires impliqués dans ce processus n'est pas connue à ce jour.

La seconde caractéristique de la première division méiotique chez la souris est l'apparition très tardive, durant la dernière heure, des fibres kinétochoriales. Pendant les sept premières heures, les chromosomes oscillent de part et d'autre de la plaque métaphasique principalement grâce aux interactions entre les microtubules et les bras des chromosomes [7]. L'absence de fibres kinétochoriales durant la quasi-totalité de la première division méiotique est peut-être spécifique à la souris. Néanmoins, si ce phénomène est général, on peut comprendre son intérêt : les chromosomes homologues étant réunis par des chiasmas* et par conséquent fragilisés à ce niveau, cela permettrait de ne pas imposer de forces de traction puissantes fortes (au niveau des kinétochores) et de ne pas risquer de cassures avant la résolution des chiasmas, qui survient en fin de méiose I. L'apparition de fibres kinétochoriales en fin de métaphase I va permettre l'alignement

des chromosomes homologues sur la plaque métaphasique, événement qui pourrait déclencher la transition métaphase I/anaphase I.

Ségrégation des chromosomes homologues/ségrégation des chromatides sœurs

Au cours de la mitose, la cohésion entre les chromatides sœurs est assurée dès la réplication au niveau des centrosomes. L'alignement des chromosomes est réalisé grâce aux deux kinétochores fils et aux microtubules du fuseau qui s'y attachent en provenance des pôles opposés : on parle de bi-orientation des kinétochores (*figure 3*, mitose). La dissociation complète des chromatides n'a lieu que quand tous les chromosomes sont bien alignés sur la plaque métaphasique, c'est-à-dire quand les forces de tension sont égales au niveau des kinétochores. Cette dissociation est due à la protéolyse des complexes cohésines par une protéase, la séparase, dont l'activation dépend elle-même d'une succession complexe d'activations de protéines au centre desquelles se trouve le complexe ubiquitine protéine ligase APC (*anaphase promoting complex*) (*m/s 2001, n° 3, p. 353*). La perte de cohésion entre les chromatides déclenche leur ségrégation aux pôles opposés du fuseau anaphasique. Outre son rôle central dans la dissociation des chromatides, l'APC provoque aussi l'inactivation du MPF en favorisant la dégradation de sa sous-unité régulatrice, la cycline B.

En première division méiotique, la cellule sépare des chromosomes homologues, dont les kinétochores sont mono-orientés (*figure 3*, méiose). Chez la levure, c'est la perte de cohésion au niveau des bras des chromosomes homologues qui constitue le signal déclencheur de l'anaphase I [8]. La dégradation de la cohésine méiotique, Rec 8, est nécessaire à la résolution des chiasmas et à la disjonction des chromosomes homologues en fin de méiose I. Par un mécanisme encore inconnu, la dégradation de Rec 8 n'est effective que le long des bras des chromosomes, mais est inhibée au niveau des centrosomes. C'est

pendant la méiose II, en sortie de métaphase II, que la protection de Rec 8 au niveau des centrosomes est levée, permettant la séparation des chromatides sœurs. Chez la levure, le processus de dégradation de Rec 8 est proche de celui observé pendant la mitose et dépend de l'APC, aussi bien pendant la transition métaphase I/anaphase I que métaphase II/anaphase II. Il semble que ce soit aussi le cas chez *C. elegans* chez lequel les mutants pour deux sous-unités de l'APC sont bloqués en métaphase I [9, 10]. De même, pour les ovocytes de souris, la durée de la métaphase I est corrélée au taux de synthèse de cycline B1 et la saturation de l'activité de l'APC par injection de cycline B1 en excès bloque la sortie de méiose I [11, 12].

En revanche, dans les ovocytes de xénope, des données récentes montrent que seule la transition métaphase II/anaphase II dépend de l'APC puisque l'inhibition de son activité ne bloque pas la ségrégation des chromosomes homologues ni l'expulsion du premier globule polaire, mais bloque totalement la sortie de méiose II [13].

Comment concilier ces données contradictoires sur le rôle de l'APC dans la transition métaphase I/anaphase I ? Une des hypothèses serait que l'activation de l'APC dans l'ovocyte de xénope, qui est une cellule de très grande taille, soit limitée aux régions proches de fuseau et n'ait pu être détectée. De telles localisations subcellulaires particulières ont en effet été montrées pour d'autres protéines du cycle cellulaire comme Cdc2.

Une division asymétrique, l'expulsion du globule polaire

Chez la souris, la transition métaphase I/anaphase I pourrait être due à la formation de fibres kinétochoriales en fin de méiose I et à l'alignement des chromosomes [7]. On observe en outre une coordination dans le temps entre la migration du fuseau de méiose vers le cortex et l'anaphase. L'injection d'ARNm codant pour la β -tubuline couplée à la GFP (*green fluorescent protein*) dans des ovocytes immatures de souris per-

* Point de croisement de deux chromatides où un échange équilibré de matériel génétique s'effectue par cassure puis recollement.

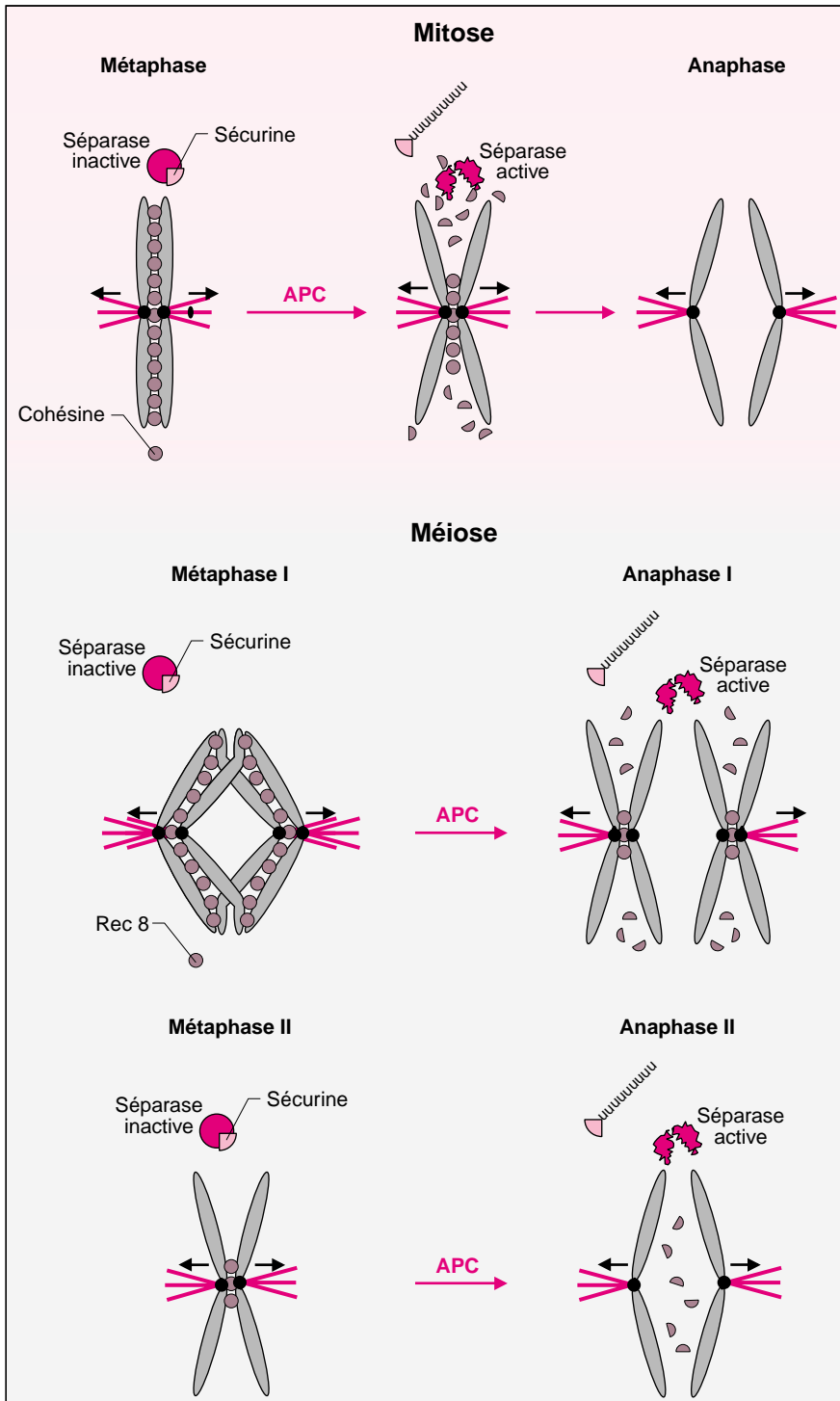


Figure 3. **Transition métaphase/anaphase en mitose et méiose chez la levure.** Au cours de la mitose, il existe un attachement bipolaire des kinétochores (en noir), et la cohésion des chromatides sœurs est assurée par les complexes cohésines. Lorsque tous les chromosomes sont alignés sur la plaque métaphasique, l'activation du complexe APC (anaphase promoting complex) provoque la dégradation de la sécurine et l'activation de la séparase. Cette dernière provoque la protéolyse de la cohésine, ce qui permet la ségrégation des chromatides sœurs. La poly-ubiquitinylation de la sécurine est représentée par une queue (uuuuu). En première division de méiose, les kinétochores sont mono-orientés, et les chromosomes homologues sont reliés entre eux au niveau des chiasmats. L'activation de la séparase provoque la dégradation de la cohésine méiotique (Rec8 chez la levure) et la perte de cohésion au niveau des bras des chromosomes, ce qui permet la ségrégation des chromosomes homologues (anaphase I). Rec8 n'est pas dégradée au niveau des centromères, et ce n'est qu'en fin de métaphase II que la protection de Rec8 est levée, permettant la séparation des chromatides sœurs (anaphase II). Les microtubules apparaissent en rouge, les chromosomes sont représentés en gris.

met de suivre *in vivo* les microtubules au cours de la méiose. Le fuseau de méiose I se forme à l'emplacement de la vésicule germinative, autour des chromosomes, sans orientation préférentielle de son grand axe [14]. Puis,

le fuseau, qui est d'abord plus ou moins central, migre suivant son grand axe vers la zone corticale la plus proche (figure 1). « L'arrivée » du fuseau au cortex coïncide avec l'anaphase qui est suivie de l'expulsion du

premier globule polaire. Ces deux événements (arrivée du fuseau et anaphase) sont indépendants, mais pourraient être coordonnés dans le temps par un niveau seuil de cycline B. La migration du fuseau vers le cortex met en place une asymétrie qui aboutit à une division inégale avec expulsion d'un premier globule polaire. Cette migration du fuseau de méiose I dépend des microfilaments, mais est indépendante des microtubules. Dans la quasi-totalité du règne animal, les fuseaux méiotiques oocytaires sont dépourvus de centrosomes et dépourvus d'asters de microtubules les reliant au cortex. Le positionnement de ces fuseaux ne dépend donc pas des interactions microtubules/microfilaments corticaux, comme c'est le cas en mitose dans l'embryon de *C. elegans* ou dans de nombreuses divisions asymé-

triques dépendant du positionnement du fuseau (*m/s* 1997, n° 1, p. 123 et 2000, n° 10, p. 1092). C'est donc un système original, propre à la maturation méiotique ovocytaire qui permet le positionnement du fuseau méiotique et l'expulsion de globules polaires.

De manière intéressante, chez le xénope et la souris, la migration du fuseau de méiose I est sous le contrôle de la voie de signalisation MAPK (pour *mitogen activated protein kinase*) impliquant la MAP kinase kinase *mos*. Dans les ovocytes de souris mutantes invalidées pour le gène *Mos* (souris *Mos*^{-/-}), le fuseau de MI ne migre pas au cortex et les globules polaires expulsés sont plus volumineux [14]. Comme nous le verrons, cette voie de signalisation *mos* joue un rôle majeur dans le bon déroulement de la méiose puisqu'elle est notamment responsable de l'arrêt en méiose II des ovocytes de vertébrés et, au moins chez le xénope, de l'absence de réplication entre les deux divisions.

Absence de réplication entre les deux phases M

L'absence de réplication entre les deux phases M méiotiques est essentielle à la formation de gamètes haploïdes. Chez le xénope, la voie de signalisation *Mos*/.../MAPK serait nécessaire à la réactivation du MPF après la métaphase I, réactivation qui joue un rôle majeur dans cette absence de phase S. En effet, l'inhibition de la voie *Mos* dans des ovocytes, provoque le passage en interphase et la réplication de l'ADN, tandis que l'injection d'une forme constitutivement active d'un substrat de la voie *Mos*, *p90^{rsk}* (*ribosomal S6 kinase*), restaure la réactivation du MPF et rétablit l'arrêt métaphasique ([15] et *m/s* 2000, n° 4, p. 563). Cependant, chez la souris, l'absence de voie *Mos* n'empêche pas la réactivation du MPF après l'expulsion d'un premier globule polaire [16]. Dans ce cas, c'est la réactivation rapide du MPF qui empêche le déclenchement de la réplication. La voie *Mos* constituerait plutôt une sécurité qui, en maintenant la chromatine condensée pendant la transition méiose I et II,

empêcherait toute réplication même en l'absence de MPF actif.

De plus, l'absence de la protéine-kinase *Wee 1* pendant la quasi-totalité de la maturation méiotique constituerait un mécanisme conservé dans les différentes espèces permettant d'éviter la réplication entre les deux divisions méiotiques en autorisant une réactivation très rapide du MPF. En effet, *Wee 1* inhibe *cdc2* par phosphorylation des deux résidus inhibiteurs (Thr14 et Tyr15), et sa surexpression dans des ovocytes de xénope immatures, en empêchant la réactivation du MPF après la première division méiotique, provoque l'entrée en interphase et la réplication [17]. L'absence de la protéine *Wee 1* empêche la production de pré-MPF pendant la transition MI/MII, évitant ainsi la nécessité d'une réactivation du pré-MPF en MPF pour l'entrée en métaphase II.

Enfin, dans toutes les espèces étudiées, l'activité MPF n'atteint pas son niveau basal pendant la transition méiose I/méiose II. Cette petite activité résiduelle semble suffisante pour déclencher une boucle de régulation positive de l'activation du MPF, de façon similaire à ce qui se produit lors de la reprise de la méiose, notamment chez le xénope. Elle pourrait être due, pendant la transition MI/MII, à une fenêtre de dégradation de la cycline B trop brève, 4h chez la souris, pour dégrader tout le MPF [12]. Il serait important de comprendre comment cette fenêtre de dégradation est ouverte puis fermée durant la transition.

L'arrêt CSF des ovocytes de vertébrés

Une des caractéristiques de la méiose est le blocage de la maturation des ovocytes par une activité cytoplasmique appelée CSF qui est normalement levée par la fécondation. La fécondation déclenche une augmentation brutale de la concentration de Ca²⁺ intracellulaire dont la résultante est l'activation ovocytaire avec expulsion du second globule polaire. Ce pic calcique provoque l'activation de la calmoduline kinase II dépendante du calcium (CaMKII), qui active l'APC et

permet l'inactivation du MPF en dégradant la cycline B (*figure 4*) [13, 18].

On sait que l'activité CSF est véhiculée par la voie de signalisation *Mos* comme le montrent l'activation spontanée – c'est-à-dire en l'absence de fécondation – et l'expulsion du second globule polaire d'ovocytes de souris *Mos*^{-/-} [19, 20]. Cette voie de signalisation empêche la dégradation de la cycline B en inhibant le complexe APC, non pas directement mais plutôt en agissant sur un inhibiteur de l'APC non identifié à ce jour (*figure 4*) [21]. La protéine *p90^{rsk}*, qui est activée lors de la maturation méiotique, serait le substrat physiologique de la voie *Mos*/.../MAP kinase nécessaire à l'arrêt en méiose II. Cependant, on peut souligner que si les ovocytes de souris *Mos*^{-/-} ne sont pas bloqués en métaphase II, leur activité kinase associée à *p90^{rsk}* n'est réduite que de moitié par rapport aux ovocytes de souris sauvages [22]. Cela suggère que *p90^{rsk}* n'est pas la cible unique de la voie *Mos* chez la souris. Enfin, chez la souris, il existe une seconde voie par laquelle *Mos* active la cascade de signalisation des MAP kinases. Il s'agit d'une inhibition d'une phosphatase sensible à l'acide okadaïque et responsable de la déphosphorylation (et donc de l'inhibition) de la MAPK (*figure 4*). La nature exacte et le rôle de cette voie dans l'arrêt dû au CSF restent à préciser [23].

Que se passe-t-il au moment de la fécondation ? Contrairement à ce qu'on pourrait imaginer, la levée du blocage en métaphase II n'est pas due à une destruction du CSF, mais à une inactivation transitoire qui se produit au moment du pic d'activité de la CaMKII [18]. La voie *Mos* n'est en fait inactivée que bien plus tardivement après la levée de ce blocage. Le signal calcique et l'activation de la voie CaM KII déclenchés par la fécondation se surimposent à l'action inhibitrice du CSF. Cela déclenche tout d'abord la dégradation de la cycline B et donc l'inactivation du MPF ce qui permettra, dans un deuxième temps, d'inactiver la voie *Mos*/.../MAPK par dégradation de la protéine *Mos* [24].

Enfin, la levée du blocage de la méiose par le CSF et l'activation de l'APC semblent aussi mettre en jeu

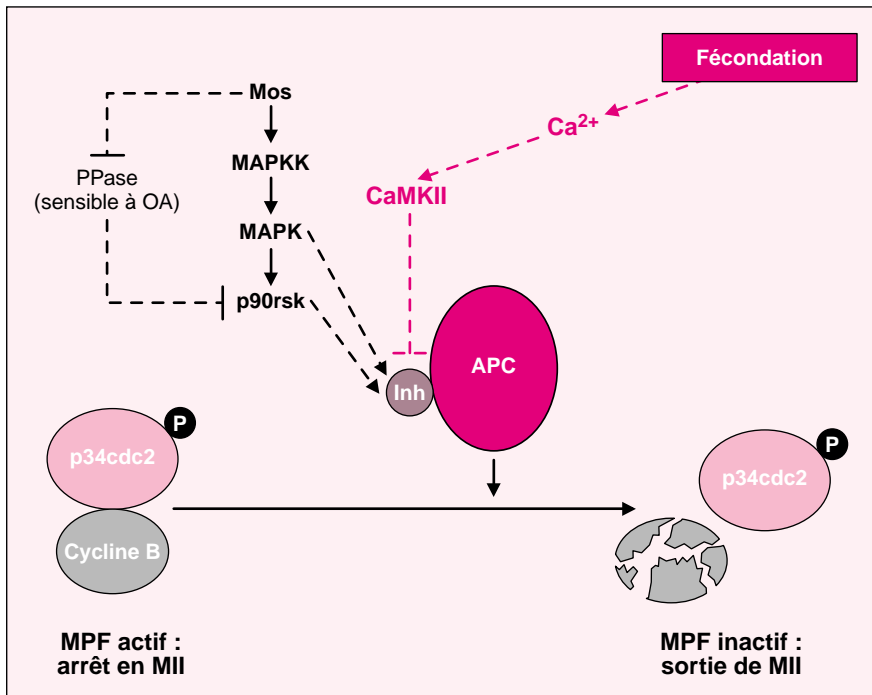


Figure 4. Mécanismes d'arrêt et de sortie de métaphase II. L'arrêt CSF (cytostatic factor) en métaphase II est dû à l'activation de la voie de signalisation des MAP kinases dont l'effecteur est la protéine-kinase p90rsk. Cette voie agit en maintenant actif un inhibiteur de l'APC (anaphase promoting complex). Au moment de la fécondation, un signal calcique active la calmoduline kinase II dépendante du calcium (CaMKII), qui à son tour provoque l'activation de l'APC. Ce dernier, en provoquant la dégradation de la cycline B, inactive le MPF (maturing promoting factor), ce qui permet la levée du blocage en métaphase II.

l'activité de la kinase plk. En effet, son inactivation dans les ovocytes de xénope empêche la levée de ce blocage [21]. Il semble que la cible de cette kinase soit plutôt l'activation du complexe APC que la voie d'arrêt de la méiose par le CSF.

Conclusions

L'ensemble de ces résultats souligne le rôle central que tient la voie de signalisation des MAP kinases dans tout le déroulement de la méiose. Elle est en effet impliquée dans la migration du fuseau de méiose I, joue un rôle – en particulier chez le xénope – dans l'absence de réplication entre les deux divisions méiotiques, et surtout est impliquée, dans toutes les espèces étudiées, dans l'arrêt de la maturation méiotique (activité CSF) qui n'est levée qu'au moment de la fécondation. On peut souligner que si tous les composants de cette voie de signalisation sont présents et actifs dès la méta-

phase de première division méiotique, ils ne bloquent cependant pas cette première division. Il est possible que, de façon similaire à ce que l'on observe au moment de la fécondation, un signal calcique déclenche la transition métaphase I/anaphase I. Un tel signal calcique a en effet été décrit chez la souris [25], sans que l'on sache comment ce signal est déclenché, ni s'il active de façon transitoire la CaMKII ■

Marie-Hélène Verlhac
Christophe Lefebvre
Marie-Émilie Terret
Golbahar Pahlavan
Pascale Rassinier
Bernard Maro

Biologie du développement, UMR 7622, Cnrs/Université Pierre-et-Marie-Curie, 9, quai Saint-Bernard, Bâtiment C-5, 75252 Paris Cedex 05, France.

RÉFÉRENCES

- Masui Y, Markert CL. Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J Exp Zool* 1971; 117: 129-46.
- Lohka MJ, Hayes MK, Maller JL. Purification of maturation promoting factor, an intracellular regulator of early mitotic events. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 3009-13.
- Karaiskou A, Jessus C, Brassac T, Ozon R. Phosphatase 2A and polo kinase, two antagonistic regulators of cdc25 activation and MPF auto-amplification. *J Cell Sci* 1999; 112: 3747-56.
- Pahlavan G, Polanski Z, Kalab P, Golsteyn R, Nigg EA, Maro B. Characterization of polo-like kinase 1 during meiotic maturation of the mouse oocyte. *Dev Biol* 2000; 220: 392-400.
- Ferby I, Blazquez M, Palmer A, Eritja R, Nebreda AR. A novel p34(cdc2)-binding and activating protein that is necessary and sufficient to trigger G(2)/M progression in *Xenopus* oocytes. *Genes Dev* 1999; 13: 2177-89.
- Lenormand JL, Dellinger RW, Knudsen KE, Subramani S, Donoghue DJ. Speedy: a novel cell cycle regulator of the G2/M transition. *EMBO J* 1999; 18: 1869-77.
- Brunet S, Maria AS, Guillaud P, Dujardin D, Kubiak JZ, Maro B. Kinetochore fibers are not involved in the formation of the first meiotic spindle in mouse oocytes, but control the exit from the first meiotic metaphase. *J Cell Biol* 1999; 146: 1-11.
- Buonomo SB, Clyne RK, Fuchs J, Loidl J, Uhlmann F, Nasmyth K. Disjunction of homologous chromosomes in meiosis I depends on proteolytic cleavage of the meiotic cohesin Rec8 by separin. *Cell* 2000; 103: 387-98.
- Furuta T, Tuck S, Kirchner J, et al. EMB-30: an APC4 homologue required for metaphase-to-anaphase transitions during meiosis and mitosis in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell* 2000; 11: 1401-19.
- Golden A, Sadler PL, Wallenfang MR, et al. Metaphase to Anaphase (mat) Transition-defective Mutants in *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Biol* 2000; 151: 1469-82.
- Polanski Z, Ledan E, Brunet S, et al. Cyclin synthesis controls the progression of meiotic maturation in mouse oocytes. *Development* 1998; 125: 4989-97.
- Ledan E, Polanski Z, Terret ME, Maro B. Meiotic maturation of the mouse oocyte requires an equilibrium between cyclin B synthesis and degradation. *Dev Biol* 2001; 232: 400-13.
- Peter M, Castro A, Lorca T, et al. The APC is dispensable for first meiotic anaphase in *Xenopus* oocytes. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 83-7.

RÉFÉRENCES

14. Verlhac MH, Lefebvre C, Guillaud P, Rassiner P, Maro B. Asymmetric division in mouse oocytes: with or without Mos. *Curr Biol* 2000; 10: 1303-6.
15. Gross SD, Schwab MS, Taieb FE, Lewellyn AL, Qian YW, Maller JL. The critical role of the MAP kinase pathway in meiosis II in *Xenopus* oocytes is mediated by p90rsk. *Curr Biol* 2000; 10: 430-8.
16. Verlhac MH, Kubiak JZ, Weber M, et al. Mos is required for MAP kinase activation and is involved in microtubule organization during meiotic maturation in the mouse. *Development* 1996; 122: 815-22.
17. Murakami MS, Copeland TD, Vande Woude GF. Mos positively regulates Xee1 to lengthen the first mitotic cell cycle of *Xenopus*. *Genes Dev* 1999; 13: 620-31.
18. Lorca T, Cruzalegui FH, Fesquet D, et al. Calmodulin-dependent protein kinase II mediates Ca^{2+} -dependent inactivation of MPF and CSF activities upon the fertilization of *Xenopus* eggs. *Nature* 1993; 366: 270-3.
19. Colledge WH, Carlton MB, Udy GB, Evans MJ. Disruption of c-mos causes parthenogenetic development of unfertilized mouse eggs. *Nature* 1994; 370: 65-8.
20. Hashimoto N, Watanabe N, Furuta Y, et al. Parthenogenetic activation of oocytes in c-mos-deficient mice. *Nature* 1994; 370: 68-71.
21. Descombes P, Nigg EA. The polo-like kinase Plx1 is required for M phase exit and destruction of mitotic regulators in *Xenopus* egg extracts. *EMBO J* 1998; 17: 1328-35.
22. Kalab P, Kubiak JZ, Verlhac MH, Colledge WH, Maro B. Activation of p90rsk during meiotic maturation and first mitosis in mouse oocytes and eggs: MAP kinase-independent and dependent activation. *Development* 1996; 122: 1957-64.
23. Verlhac MH, Lefebvre C, Kubiak JZ, et al. Mos activates MAP kinase in mouse oocytes through two opposite pathways. *EMBO J* 2000; 19: 6065-74.
24. Nishizawa M, Okazaki K, Furuno N, Watanabe N, Sagata N. The «second-codon rule» and autophosphorylation govern the stability and activity of Mos during the meiotic cell cycle in *Xenopus* oocytes. *EMBO J* 1992; 11: 2433-46.
25. Tombes RM, Simerly C, Borisy GG, Schatten G. Meiosis, egg activation, and nuclear envelope breakdown are differentially reliant on Ca^{2+} , whereas germinal vesicle breakdown is independent in the mouse oocyte. *J Cell Biol* 1992; 117: 799-811.

BRÈVES

■■■ Ovocytes: la chasse au gaspi...

Si, chez la femme, plusieurs millions de cellules germinales sont présentes dans l'ovaire du fœtus à 5 mois, l'importance du gaspillage est tout aussi considérable puisque seuls environ 500 ovocytes sont destinés à ovuler [1]. Cette perte se produit pendant la vie fœtale, mais aussi après la naissance pendant la croissance des follicules puisque plus de 99% d'entre eux vont dégénérer par apoptose (*m/s* 2001, n°2, p. 230). Cette apoptose semble dépendre notamment des taux de protéines pro-apoptotique Bax, et anti-apoptotique Bcl-x_L. L'équipe de J. Tilly vient démontrer que tout facteur capable de provoquer un déséquilibre en faveur de Bax est susceptible d'augmenter cette perte d'ovocytes [2]. Ainsi, ils ont montré que, chez la souris, le promoteur du gène *Bax* contient deux éléments de réponse pour le récepteur Aryl hydrocarboné

(Ahr). Ahr, largement exprimé dans les follicules ovariens, est un facteur de transcription activé lors de son couplage avec des toxines de type hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH). L'ajout de PAH dans des ovaires de souris, *ex vivo*, entraîne une augmentation de la transcription du gène *Bax* et l'apoptose des ovocytes. La mutation des éléments de réponse pour Ahr inhibe la transcription de *Bax* et l'apoptose est abolie dans des ovaires de souris *Bax*^{-/-} ou en présence d'un antagoniste du récepteur Ahr, le 9,10-diméthylbenzen[a]anthracène. De façon surprenante, la dioxine qui, elle aussi, se fixe sur Ahr et l'active, ne provoque pas la mort des ovocytes. Or, l'élément de réponse pour le couple dioxine-Ahr diffère de celui du couple PAH-Ahr par une seule base, adénine *versus* guanine. Les deux éléments de réponse du promoteur de *Bax* comprennent

cette guanine. Leur mutation en adénine confère à la dioxine la capacité de transactiver *Bax* et d'induire l'apoptose des ovocytes. Ces résultats montrent donc l'existence d'un lien direct entre l'activation de Ahr, la protéine Bax et la survie des ovocytes. Mais qu'en est-il chez la femme? La même chose semble-t-il: l'injection *in vivo* de PAH à des souris ayant subi au préalable une xéno-greffe de tissu ovarien humain, provoque, dans le tissu greffé, une augmentation de l'expression de Bax et l'apoptose des ovocytes. Quand on sait que la source principale de PAH est la combustion des énergies d'origine fossile et la fumée de cigarette...

[1. Mermillod P, et al. *Med Sci* 1999; 15: 148-55.]

[2. Matkainen T, et al. *Nat Genet* 2001; 28: 355-60.]