

## La cohésion des chromatides-sœurs et sa régulation au cours du cycle cellulaire

Un des traits les plus caractéristiques du cycle cellulaire des eucaryotes, qui le distingue de celui des bactéries, est le maintien prolongé de l'association des chromatides-sœurs, depuis la réplication de l'ADN jusqu'à la transition métaphase-anaphase. Sans cette propriété essentielle, la méiose, donc la reproduction sexuée des eucaryotes, n'aurait pu émerger au cours de l'évolution.

Ce maintien prolongé de la cohésion entre chromatides-sœurs est assuré par des complexes protéiques, les complexes cohésines, contenant en particulier des membres de la famille SMC (*Structural Maintenance of Chromosomes*) et Scc (*Sister chromatid cohesion*) identifiés par des cribles génétiques chez les levures. La cohésion est établie pendant la phase S lors du passage d'une fourche de réplication de l'ADN, ce qui exclut l'association entre chromosomes distincts, même homologues [1].

Chez les eucaryotes supérieurs, les complexes cohésines se dissocient des chromatides-sœurs en deux étapes. La majeure partie de ces complexes est éliminée en prométaphase lorsque les chromosomes se condensent. Les mécanismes responsables de cette dissociation précoce des complexes cohésines sont actuellement inconnus. Cependant, une petite fraction des complexes cohésines restent liés aux chromatides, particulièrement au voisinage des centromères, et leur dissociation n'a lieu qu'à la transition métaphase-anaphase, quand chaque paire de kinétochores\* est attachée de façon symétrique aux microtubules les reliant aux pôles opposés du fuseau mitotique. Cette dissociation est associée

à la protéolyse de Scc1 au sein des complexes cohésines résiduels sous l'action d'une cystéine-protéase apparentée aux caspases, la séparase [2]. Les mécanismes aboutissant à la protéolyse de Scc1 sont complexes et dépendent du système ubiquitine-protéasome [2, 3]. En effet, la séparase est inactive tant qu'elle est associée à une protéine appelée sécurine. Son activation ne survient que quand la sécurine est ubiquitinylée et dégradée par le protéasome. Cette voie d'ubiquitylation fait intervenir le

complexe APC (*anaphase-promoting complex*), une ubiquitine protéine ligase, dont l'activation requiert son association transitoire avec la protéine Fizzy [4]. Fizzy est elle-même maintenue sous une forme inactive par sa liaison avec une forme inhibitrice de la protéine Mad2, et ce jusqu'à la transition métaphase-anaphase [5]. Dans cette série d'événements, c'est donc l'activation de Fizzy qui est le facteur limitant pour la dissociation des chromatides, prélude à leur ségrégation (figure 1).

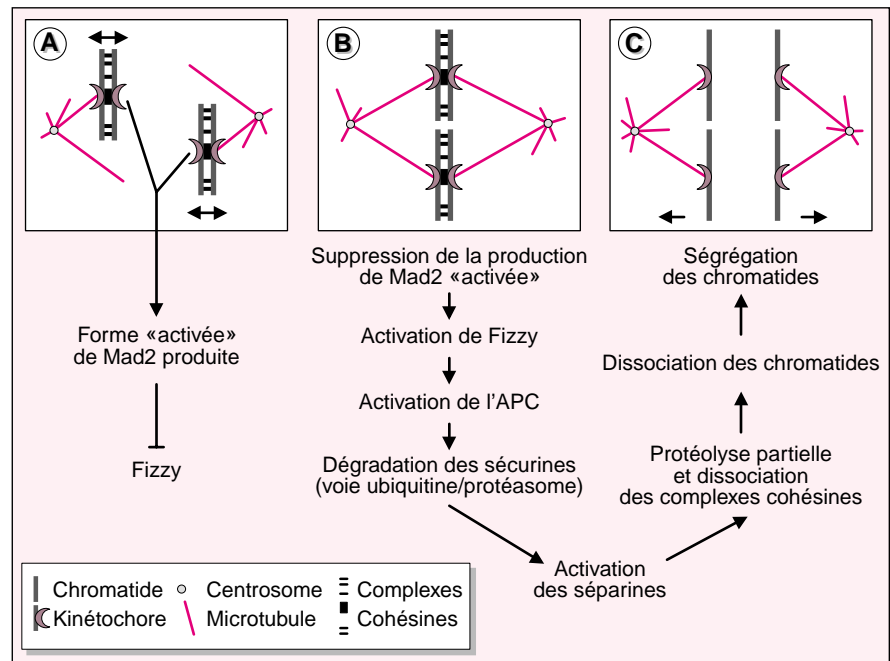


Figure 1. **Séparation des chromatides-sœurs pendant le cycle cellulaire. A.** La présence d'un kinétochoire libre catalyse la production d'une forme tétramérique inhibitrice de Mad2, qui s'assemble en complexes avec Fizzy et l'inhibe. **B.** Quand chaque paire de kinétochores est attachée de façon symétrique aux microtubules, la protéine Mad 2 est inactivée, ce qui entraîne l'activation de Fizzy qui peut alors s'associer au complexe APC (anaphase-promoting complex). APC ainsi activé permet l'ubiquitylation de la sécurine, qui est elle-même associée aux séparines, et sa dégradation par le protéasome. Les séparines activées provoquent la protéolyse de Scc1 et la dissociation des chromatides-sœurs, ce qui permet leur ségrégation (C).

\* Kinétochoire : assemblage protéique complexe sur le centromère, lieu d'ancrage des microtubules du fuseau mitotique au chromosome.

Des études récentes suggèrent un modèle dans lequel les kinétochores libres (non attachés aux pôles du fuseau par des microtubules) catalysent la production d'une forme tétramérique inhibitrice de Mad2, qui s'assemble en complexes avec Fizzy [6]. Mad2 est en effet un constituant transitoire des kinétochores non attachés. Cette protéine et les produits d'autres gènes tels que Bub1, Bub3, Mad1, Mad3 et Mps1 ont été identifiés chez la levure par des mutations qui suppriment l'arrêt du cycle cellulaire que l'on observe normalement après un traitement par des agents dépolymérisant les microtubules. Ces protéines, très conservées entre les espèces, sont préférentiellement localisées au niveau des kinétochores. S'y ajoutent chez les métazoaires la protéine kinase kinétochoriale BUBR1, (qui semble être un hybride entre BUB1 et MAD3), et une série d'autres protéines impliquées dans ce point de contrôle du cycle cellulaire, telles que la kinésine CENP-E, une ou plusieurs protéines non identifiées reconnues par l'anticorps monoclonal 3F3/2, les protéines Zeste White 10 et Rough Deal et une forme active de MAP kinase [7, 8].

Deux modèles pourraient expliquer la production, par les kinétochores non attachés, d'un signal conduisant à l'activation du point de contrôle mitotique et donc à l'arrêt du cycle cellulaire : l'absence de tension au niveau des kinétochores ou la présence *per se* d'un kinétochore non attaché. Dans les deux cas, la kinésine CENP-E, un moteur moléculaire dépendant des microtubules, est particulièrement bien placée pour servir de relais entre les microtubules et la partie la plus externe des kinétochores, avec laquelle elle interagit par un domaine de 350 acides aminés. Il a en effet été montré récemment, dans le système des extraits d'œufs de xénope, que la déplétion de CENP-E supprime l'activation du point de contrôle mitotique par le nocodazole, un poison des microtubules [9]. CENP-E, pourrait donc être une (la ?) molécule sensible à la tension, car les kinésines subissent des changements de conformation dépendant des microtubules, à l'ori-

gine d'une production de force. Réciproquement, il est possible que l'application d'une force de tension à ce moteur moléculaire puisse provoquer un changement de sa conformation et modifier son aptitude à interagir avec d'autres protéines impliquées dans le point de contrôle mitotique, par exemple BUBR1 avec laquelle elle interagit directement. L'attachement bipolaire de tous les chromosomes, quoique requis, n'est peut-être pas le signal ultime mettant fin à la production de la forme active de l'inhibiteur Mad2. En effet, l'anaphase n'est normalement déclenchée, et ceci de façon brutale, que lorsque tous les chromosomes sont alignés sur la plaque métaphasique. On peut ainsi distinguer deux catégories de mutants du point de contrôle mitotique chez la drosophile : dans la première (mutants *bub1* par exemple), les cellules entrent en anaphase avant que tous les chromosomes aient réalisé l'attachement bipolaire ; dans la deuxième (mutants *rough deal* par exemple) l'anaphase commence après l'attachement bipolaire de tous les chromosomes, mais avant alignement sur la plaque métaphasique [8]. Il est donc possible que le point de contrôle détecte les deux événements et n'autorise l'activation de Fizzy chez les eucaryotes supérieurs que si les deux conditions (bipolarité et alignement) sont réalisées. Les moteurs moléculaires impliqués dans l'alignement en plaque métaphasique (CENP-E, chromokinésine *kid*, et dynéine) [10] pourraient jouer un rôle à ce niveau.

Malgré l'intensité des recherches dans ce domaine, beaucoup reste encore à faire pour élucider les mécanismes contrôlant la cohésion des chromatides-sœurs au cours du cycle cellulaire, dont les dysfonctionnements constituent une cause majeure d'instabilité génétique et d'aneuploidie, souvent corrélés au développement de cancers et à la létalité embryonnaire.

1. Koshland DE, Guacci V. Sister chromatid cohesion : the beginning of a long and beautiful relationship. *Curr Opin Cell Biol* 2000 ; 12 : 297-301.

2. Waizenegger IC, Hauf S, Meinke A, Peters J. Two distinct pathways remove mammalian cohe-

sin from chromosome arms in prophase and from centromeres in anaphase. *Cell* 2000 ; 103 : 399-410.

3. Holloway SL, Glotzer M, King RW, Murray AW. Anaphase is initiated by proteolysis rather than by the inactivation of maturation-promoting factor. *Cell* 1993 ; 73 : 1393-402.

4. Lorca T, Castro A, Martinez AM, *et al*. Fizzy is required for activation of the APC/cyclosome in *Xenopus* egg extracts. *EMBO J* 1998 ; 17 : 3565-75.

5. Fang G, Yu H, Kirschner MW. The checkpoint protein MAD2 and the mitotic regulator CDC20 form a ternary complex with the anaphase-promoting complex to control anaphase initiation. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 1871-83.

6. Howell BJ, Hoffman DB, Fang G, Murray AW, Salmon ED. Visualization of Mad2 dynamics at kinetochores, along spindle fibers, and at spindle poles in living cells. *J Cell Biol* 2000 ; 18 : 1233-49.

7. Pidoux AL, Allshire RC. Centromeres: getting a grip of chromosomes. *Curr Opin Cell Biol* 2000 ; 12 : 308-19.

8. Basto R, Gomes R, Kares RE. Rough Deal and Zw10 are required for the metaphase checkpoint in *Drosophila*. *Nature Cell Biol* 2000 ; 2 : 939-43.

9. Abrieu A, Kahana JA, Wood KW, Cleveland DW. CENP-E is an essential component of the mitotic checkpoint *in vitro*. *Cell* 2000 ; 102 : 817-26.

10. Heald R. Motor Function in the mitotic spindle. *Cell* 2000 ; 102 : 399-402.

#### Ariane Abrieu

Ludwig Institute for Cancer Research,  
University of California-San Diego,  
9500 Gilman drive, La Jolla CA 92093-  
0660, États-Unis.

#### Marcel Dorée

CRBM, Centre de recherche de biochimie  
macromoléculaire, Cnrs UPR 1086,  
1919, route de Mende, 34293 Montpel-  
lier Cedex 5, France.

1