

Réplication et recombinaison vont de pair pendant la méiose

La méiose est le processus essentiel de la gamétogenèse utilisé par les organismes eucaryotes pour assurer la production de gamètes haploïdes à partir des cellules diploïdes de la lignée germinale. La réduction ordonnée du contenu génomique des cellules germinales est assurée par deux cycles de ségrégation des chromosomes (méioses I et II), précédés par un seul cycle de réplication de l'ADN (appelée réplication préméiotique) conduit à la formation de deux paires de chromatides sœurs puis, lors de la première division de méiose, dite réductionnelle, les chromosomes homologues se séparent; enfin, lors de la seconde division, dite équationnelle, les chromatides sœurs de chaque homologue se séparent (comme dans une mitose classique) et les cellules haploïdes ainsi produites se différencient pour former les gamètes haploïdes (figure 1A). Un autre événement clé de la méiose est la recombinaison entre les chromosomes homologues, qui a lieu entre la fin de la réplication préméiotique et la méiose I. Cette recombinaison généralisée, dont la fréquence est très élevée (environ 10 à 1 000 fois supérieure à celle des cellules somatiques) et qui est à la base des cartes génétiques, joue un double rôle: elle permet le brassage de l'information génétique portée par les chromosomes maternels et paternels et est nécessaire au bon déroulement de la méiose en assurant la ségrégation ordonnée des paires d'homologues lors de la division réductionnelle. Plusieurs études récentes sur des organismes modèles et chez l'homme (revue dans [1, 2])

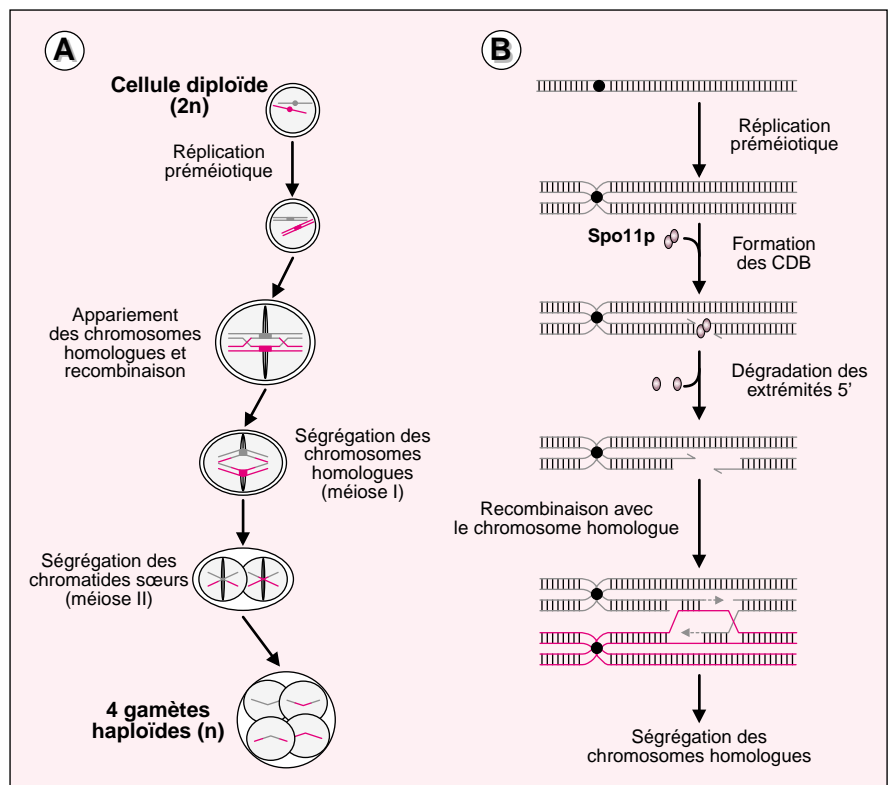


Figure 1. **Méiose et recombinaison méiotique.** A. Déroulement de la méiose. Seule une paire de chromosomes homologues est représentée. La recombinaison méiotique a lieu entre la fin de la réplication préméiotique et la méiose I. B. Mécanisme moléculaire du déclenchement de la recombinaison méiotique par des cassures double-brin de l'ADN chez *S. cerevisiae*. La réplication préméiotique rend certains sites de la chromatine accessibles pour la liaison de protéines dont la nucléase Spo11 qui induit la formation de cassures double brin (CDB). Ces cassures seront réparées par recombinaison avec le chromosome homologue, permettant ainsi le brassage de l'information génétique.

ont montré que les anomalies de recombinaison conduisent soit à un arrêt du cycle méiotique, donc à une stérilité, soit à la formation de gamètes anormales (aneuploïdies). Par exemple, une grande proportion

des trisomies 21 chez l'homme est due à des anomalies de ségrégation de ce chromosome au cours de la première ou de la seconde division de méiose, en corrélation avec une modification de la fréquence ou de

la localisation des événements de recombinaison le long de ce chromosome. Ces anomalies de ségrégation ont lieu préférentiellement dans la lignée germinale maternelle mais aussi lors de la spermatogenèse [3]. Depuis quelques années, grâce aux systèmes modèles, et en particulier les travaux sur la levure *Saccharomyces cerevisiae*, les mécanismes moléculaires de la méiose et de la recombinaison méiotique commencent à être mieux compris (*revue dans* [4, 5]). Chez *S. cerevisiae*, la formation programmée de cassures double brin (CDB) dans l'ADN déclenche le processus de recombinaison méiotique (*figure 1B*). Leur réparation par recombinaison, avec les séquences présentes sur le chromosome homologue, conduit à la formation des échanges chromosomiques (*crossing over*) dont la manifestation cytologique est le chiasma. Les CDB ont lieu dans leur très grande majorité dans les séquences non codantes de l'ADN, régions promotrices des gènes, accessibles aux nucléases (chromatine ouverte) [1]. Cependant, toutes les régions ouvertes de la chromatine ne portent pas de sites de déclenchement de la recombinaison, et ceux-ci sont groupés dans certaines séquences appelées *hot-spot*, alors que des régions assez importantes peuvent être totalement dépourvues de CDB [6]. Les mécanismes qui gouvernent la répartition des CDB à grande échelle le long des chromosomes sont encore assez peu connus.

Le mécanisme de déclenchement par cassures programmées est vraisemblablement utilisé chez tous les eucaryotes car la nucléase responsable des CDB, *Spo11*, est conservée, et sa délétion entraîne toujours une absence de recombinaison méiotique. Cela vient d'être montré en particulier chez la souris [7, 8]. *Spo11* est l'homologue d'une sous-unité de la Topo VI, topoisomérase archaebactérienne de type II [9] et se lie de façon covalente à l'extrémité des CDB [10]. Cependant, la formation des CDB ne requiert pas uniquement *Spo11*, et l'activité d'une dizaine de protéines, dont on pense que certaines font partie d'un complexe, est également nécessaire. L'assemblage de ce complexe et la fonction indivi-

duelle de chaque protéine font l'objet d'intenses recherches.

Plusieurs études convergentes ayant récemment mis en évidence un rôle insoupçonné de la réplication préméiotique dans le contrôle du déclenchement de la recombinaison, cet article résume brièvement ces faits nouveaux, qui illustrent l'intégration des divers processus du métabolisme de l'ADN (réplication, réparation, recombinaison) et de leurs contrôles dans la réalisation du programme méiotique.

Le déclenchement de la recombinaison dépend directement de la réplication préméiotique

Dans les cellules synchrones de *S. cerevisiae*, la prophase de la méiose I dure environ 4 h et la phase S de réplication préméiotique de l'ADN précède la formation des CDB d'environ 1,5 h. La nature des événements se produisant pendant cette période n'est pas connue, mais se pose évidemment la question du rôle éventuel de la réplication dans la préparation des événements chromosomiques aboutissant à la formation des CDB.

Des études précédentes montraient que la recombinaison méiotique était inhibée dans les cellules traitées par l'hydroxyurée (inhibiteur indirect de la synthèse d'ADN), ainsi que chez certains mutants déficients pour la réplication préméiotique. Les études récentes ont montré que cette absence de recombinaison est due à une absence de CDB [11-13] et ne résulte pas d'un arrêt du cycle cellulaire (avant le déclenchement de la recombinaison) en présence d'une réplication incomplète. En effet, nous avons montré que les cellules mutées pour le gène *MEC1*, connu pour son rôle dans le blocage du cycle cellulaire lorsque la réplication est inhibée par l'hydroxyurée, contiennent la progression méiotique, mais ne forment pas de CDB [11]. De même, il vient d'être montré que les cellules mutées pour les gènes des cyclines de type B *CLB5* et *CLB6* progressent également dans le cycle méiotique alors même qu'elles sont déficientes pour la réplication préméiotique. Malgré cette progression

dans le cycle, ces cellules ne forment toujours pas de CDB [13]. Ces études convergentes suggèrent donc l'existence d'un lien fonctionnel entre déclenchement de la recombinaison et réplication préalable de l'ADN.

La réplication déclenche une série d'événements aboutissant à la formation des cassures double brin

Pour aborder la nature de ce lien nouveau entre réplication et recombinaison, qui peut être direct ou indirect, nous avons modifié le programme de réplication d'un chromosome de levure, et étudié la corrélation temporelle et spatiale entre réplication et formation des CDB. Pour cela, nous avons utilisé deux méthodes pour retarder la réplication spécifiquement sur l'un des bras du chromosome III. La première est la délétion par transformation de toutes les origines de réplication du bras gauche du chromosome III (*ARS305*, *ARS306* et *ARS307*). Par gels bidimensionnels, nous avons confirmé que la réplication préméiotique est retardée de 30 à 60 minutes sur ce bras chromosomique, qui est alors répliqué passivement par des fourches initiées aux origines présentes dans le bras droit (*figure 2*). La seconde est la construction d'une translocation réciproque entre les chromosomes I et III juxtaposant un télomère avec une région de CDB sur le bras gauche. Nous avons également observé un retard de la réplication du bras gauche du chromosome III dans cette translocation, où l'origine *ARS306* est activée plus tard et est moins active que dans le chromosome III normal. Dans ces deux cas, le retard de la réplication s'accompagnait d'un retard équivalent dans la formation des CDB, montrant que ces deux événements sont directement couplés à un niveau local, et non par un contrôle global à l'échelle du génome [11]. En revanche, la réparation des CDB par recombinaison semble répondre à un signal cellulaire global car, quel que soit le moment de leur formation (précoce ou tardif), les CDB sont réparées de manière simultanée.

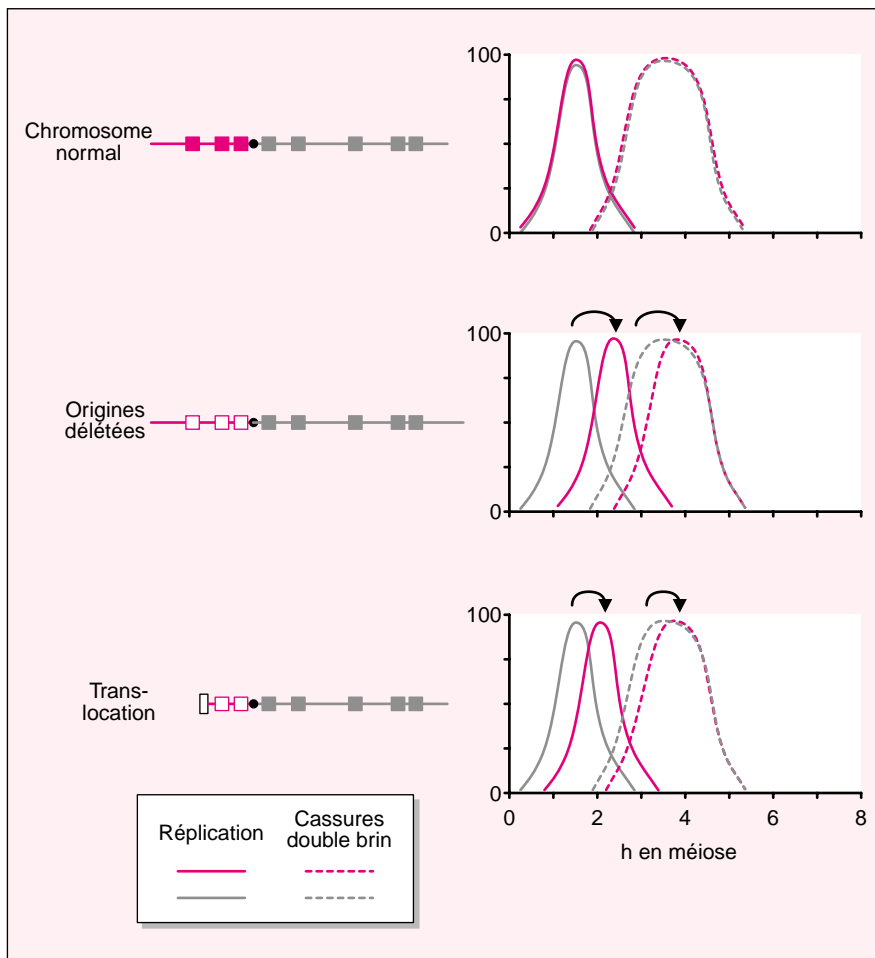


Figure 2. **Couplage entre réplication et déclenchement de la recombinaison méiotique.** Les différentes constructions du chromosome III de *S. cerevisiae* sont illustrées sur la gauche. Les origines de réplication sont indiquées par des carrés pleins si elles sont actives et vides si elles sont inactivées. Le centromère du chromosome est indiqué par un cercle noir. Dans le chromosome normal, les CDB apparaissent au même moment dans les deux bras, environ 1 h 30 après leur réplication. Quand la réplication est retardée sur le bras gauche (rouge), soit après délétion des origines de réplication, soit après leur inactivation par translocation, la formation des CDB est aussi spécifiquement retardée sur ce bras chromosomique (d'après [11]).

Réplication, structure de la chromatine, et formation des CDB

Au cours des dernières années, plusieurs études ont montré que la formation de CDB est précédée d'une augmentation de l'accessibilité de la chromatine aux futurs sites de CDB [14-16]. Ceci est actuellement interprété comme résultant de la fixation et de l'assemblage d'un complexe « pré-CDB » sur ces sites. Nos résultats

suggèrent que la réplication pré-méiotique provoque une chaîne d'événements au niveau de la chromatine qui aboutit au déclenchement de la recombinaison par les CDB. L'étude récente de l'accessibilité de la chromatine dans les cellules mutantes *clb5 clb6* montrant l'absence de cette modification suggère désormais que le rôle de la réplication pré-méiotique dans la formation des CDB serait de créer une structure chromatiniennne permettant à la

nucléase *Spo11* d'accéder à ses sites de coupure [13]. Dans ce sens, l'étude de l'interaction avec leurs sites des nombreuses protéines impliquées dans la formation des CDB devrait désormais pouvoir être abordée rapidement en utilisant les techniques de suivi de l'association *in vivo* des protéines avec la chromatine (*chromatin immunoprecipitation*).

Outre l'hypothèse prévalente du rôle de la réplication dans la formation d'un substrat chromatinien, d'autres mécanismes de couplage sont également envisagés. En particulier, l'étude de l'effet de l'hydroxyurée [17] et des mutations des cyclines B [13] a également mis en évidence des effets transcriptionnels associés aux défauts de déclenchement et de progression de la réplication.

Dans un avenir proche, l'étude comparée des différents systèmes perturbant la réplication pré-méiotique (inhibition par l'hydroxyurée, mutants de déclenchement ou d'élongation, retard local de la réplication) permettra sans aucun doute de préciser les différents mécanismes qui assurent le couplage fonctionnel entre réplication pré-méiotique et déclenchement de la recombinaison, dont l'intérêt biologique est d'empêcher les conséquences désastreuses que peut engendrer la formation de cassures chromosomiques (environ 150 par cellule) avant que le génome ait été répliqué.

1. Smith KN, Nicolas A. Recombination at work for meiosis. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 200-11.
2. Mézard C, Baudat F, Debrauwère H, et al. Mechanisms and control of meiotic recombination in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Soc Biol* 1999; 193: 23-7.
3. Lamb NE, Feingold E, Savage A, et al. Characterization of susceptible chiasma configurations that increase the risk for maternal nondisjunction of chromosome 21. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1391-9.
4. Zickler D, Kleckner N. The leptotene-zygotene transition of meiosis. *Annu Rev Genet* 1998; 32: 619-97.
5. Zickler D, Kleckner N. Meiotic chromosomes: integrating structure and function. *Annu Rev Genet* 1999; 33: 603-754.
6. Baudat F, Nicolas A. Clustering of meiotic double-strand breaks on yeast chromosome III. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5213-8.
7. Baudat F, Manova K, Yuen JP, Jasin M, Keeney S. Chromosome synapsis defects and sexually dimorphic meiotic progression in mice lacking *spo11*. *Mol Cell* 2000; 6: 989-98.

8. Romanienko PJ, Camerini-Otero RD. The mouse spo11 gene is required for meiotic chromosome synapsis. *Mol Cell* 2000; 6: 975-87.

9. Bergerat A, de Massy B, Gadelle D, Varoutas PC, Nicolas A, Forterre P. An atypical topoisomerase II from Archaea with implications for meiotic recombination. *Nature* 1997; 386: 414-7.

10. Keeney S, Giroux CN, Kleckner N. Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. *Cell* 1997; 88: 375-84.

11. Borde V, Goldman AS, Lichten M. Direct coupling between meiotic DNA replication and recombination initiation. *Science* 2000; 290: 806-9.

12. Davies L, Barbera M, McDonnell A, et al. The *Saccharomyces cerevisiae* gene MUM2 gene inter-

acts with the DNA replication machinery and is required for meiotic levels of DSBs. *Genetics* 2001 (sous presse).

13. Smith KN, Penkner A, Ohta K, Klein F, Nicolas A. B-type cyclins CLB5 and CLB6 control the initiation of recombination and synaptonemal complex formation in yeast meiosis. *Curr Biol* 2001; 11: 88-97.

14. Ohta K, Nicolas A, Furuse M, Nabetani A, Ogawa H, Shibata T. Mutations in the *MRE11*, *RAD50*, *XRS2*, and *MRE2* genes alter chromatin configuration at meiotic DNA double-stranded break sites in premeiotic and meiotic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 646-51.

15. Ohta K, Shibata T, Nicolas A. Changes in chromatin structure at recombination initiation sites during yeast meiosis. *EMBO J* 1994; 13: 5754-63.

16. Wu TC, Lichten M. Meiosis-induced double-strand break sites determined by yeast chromatin structure. *Science* 1994; 263: 515-8.

17. Lamb TM, Mitchell AP. Coupling of *Saccharomyces cerevisiae* early meiotic gene expression to DNA replication depends upon RPD3 and SIN3. *Genetics* 2001; 157: 545-56.

Valérie Borde

Laboratoire de génétique moléculaire de la recombinaison, Cnrs-UMR 144, Institut Curie, Section de recherche, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **La plus noble conquête de l'homme***. Comparée à la domestication d'autres animaux (chiens, chats, moutons, chèvres), la domestication du cheval est relativement récente. Elle a dû se produire dans les steppes de l'Ukraine et au Kazakhstan, comme l'atteste la présence d'ossements de chevaux dans des sites archéologiques de ces régions. On trouve même parfois des traces d'usure des dents donnant à penser que les chevaux auraient été montés et certains spécialistes considèrent que l'utilisation du bât aurait été très précoce. Comment s'est faite cette domestication qui a profondément changé le cours de l'histoire des hommes ? A-t-elle eu lieu par dressage d'un petit nombre de chevaux relativement dociles dont la descendance se serait progressivement étendue dans l'Ancien Monde ? Ou bien s'est-elle produite dans de nombreux endroits sur une longue période de temps au cours de laquelle les hommes auraient appris à dresser les chevaux ? Pour trancher entre ces deux hypothèses opposées, un groupe de chercheurs a entrepris d'établir l'arbre phylogénétique des chevaux par analyse comparative de séquences d'ADN mitochondrial provenant de différents lignages de chevaux domestiques modernes, de fossiles de l'Alaska et d'ossements de sites archéologiques de Suède et d'Estonie [1]. A aussi été étudiée une des dernières races de chevaux sau-

vages, les chevaux de Prjevalski, du nom de l'explorateur russe qui les découvrit en Mongolie à la fin du XIX^e siècle, mais dont il ne subsiste plus actuellement que 13 individus vivants. Cette étude a été complétée par celle de l'ADN nucléaire (15 microsatellites). Les résultats permettent de rejeter définitivement l'hypothèse, pourtant la plus retenue jusqu'à présent, d'une domestication restreinte à partir d'un petit nombre de fondateurs, en raison de la grande diversité génétique observée. Il semble aussi, d'après la comparaison entre ADN mitochondrial (donc maternel) et ADN nucléaire, que la taille de la population des femelles fut plus importante que celle des mâles, même dans les périodes anciennes. Ce biais entre les sexes correspond aux habitudes actuelles de sélectionner un étalon pour féconder 15 à 20 juments. Ainsi, en divers endroits, et sur de longues années, l'homme a réussi à domestiquer ce bel équidé, « ce fier et fougueux animal qui partage avec lui les fatigues de la guerre et la gloire des combats », mais dont les effectifs s'amenuisent dangereusement aujourd'hui, à l'entrée du troisième millénaire.

[1. Vilà C, et al. *Science* 2001; 291: 474-7.]

* Buffon, Histoire Naturelle, les époques de la nature.

**Association Française
des Sciences et Techniques
de l'Animal de Laboratoire**
28, rue Saint-Dominique
75007 Paris
Tél. et Fax : 01 45 56 91 16

L'Association Française des Sciences et Techniques de l'Animal de Laboratoire (anciennement SFEA) organise sous la présidence de Mme Françoise Barré-Sinoussi, les 26, 27, 28 et 29 juin 2001 au Centre Léonard-de-Vinci, Tours, ses 28^{es} Journées d'Études Scientifiques et Techniques sur le thème :

« Modèles animaux en pathologie humaine et animale : intérêt scientifique et spécificités techniques »

Sessions

- Maladies cardiovasculaires (Président M.L. Hittinger)
- Maladies du système nerveux central (Président : M.M. Peschanski)
- Infectiologie (Présidente : Mme F. Barré Sinoussi)
- Maladies métaboliques et endocriniennes (Président : M.W. Pralong)
- Oncologie (Présidente : Mme F. Quintin-Colonna)

Renseignements

Alpha Visa Congrès/AFSTAL2000
624, rue des Grèzes
34070 Montpellier cedex
Tél. : +33 (0)4 67 03 03 00
Fax : +33 (0)4 67 45 57 97
afstal2001@alphavisa.com