

Contrôle somatique des cellules souches de la lignée germinale chez *Drosophila melanogaster*

*L'équilibre entre le renouvellement et la différenciation des cellules souches est contrôlé par des mécanismes intrinsèques et extrinsèques. Chez *Drosophila melanogaster*, les cellules souches de la lignée germinale et les cellules somatiques environnantes sont génétiquement modifiables, permettant une étude in vivo de ces mécanismes. Ainsi, il a été récemment montré qu'au cours*

de l'ovogenèse, les cellules somatiques sécrètent la molécule DPP, créant une « niche » moléculaire nécessaire au renouvellement des cellules souches qui s'y trouvent. Inversement, au cours de la spermatogenèse, après activation de la voie EGF, les cellules somatiques émettent un signal limitant le renouvellement des cellules souches et induisant leur différenciation.

Une cellule souche est définie par sa double capacité de se renouveler et de produire des cellules qui peuvent se différencier. Chez l'homme, de telles cellules sont, par exemple, capables de produire tous les différents types cellulaires de la lignée hématopoïétique ou bien du système nerveux. Ainsi, la compréhension des mécanismes qui contrôlent les cellules souches peut avoir des applications thérapeutiques directes si l'on veut régénérer des tissus disparus ou malades. Malheureusement, ces cellules sont rares, difficilement identifiables et se trouvent dans des environnements cellulaires complexes, ce qui rend leur étude *in vivo* difficile. Au contraire, chez la drosophile, les cellules souches de la lignée germinale, mâles ou femelles, sont bien caractérisées, leur environnement cellulaire est simple, et elles sont facilement observables et manipulables. Il est de plus possible d'utiliser tous les outils génétiques disponibles chez la drosophile pour étudier ces cellules souches *in vivo* au niveau moléculaire et cellulaire.

Le renouvellement des cellules souches peut être contrôlé par deux types de mécanismes non exclusifs, des signaux extrinsèques provenant de leur environnement cellulaire et des mécanismes intracellulaires (intrinsèques) gouvernant la ségrégation asymétrique de déterminants

cellulaires. Chez les vertébrés, l'étude des cellules souches a surtout souligné l'importance des signaux extrinsèques [1, 2], alors que, chez la drosophile, les récentes avancées concernant les divisions asymétriques des neuroblastes (cellules souches du système nerveux central) ont focalisé l'attention sur les mécanismes intrinsèques ([3] et *m/s* 2000, n° 10, p. 1092). De manière surprenante, trois articles récemment publiés démontrent comment des cellules somatiques contrôlent les cellules souches de la lignée germinale chez la drosophile, tant chez le mâle que chez la femelle [4-6].

Une « niche » moléculaire est nécessaire au maintien de la lignée germinale au cours de l'ovogenèse

Chez *Drosophila melanogaster*, l'ovaire est constitué de 16 à 20 « ovarioles* » comportant chacune une succession de chambres ovariennes. L'ovogenèse débute dans une structure spécialisée appelée le « germarium », située au pôle antérieur de chaque ovariole (figure 1A). A l'apex du germarium se trouvent 2 à 3 cellules

souches de la lignée germinale (CSG), entourées par trois types de cellules somatiques mitotiquement inactives: directement au contact des CSG se trouvent les cellules de la coiffe (CC), plus antérieurement se trouvent les cellules du filament terminal (CFT), alors que postérieurement aux cellules de la coiffe se trouvent les cellules du manteau intérieur (CMI) (figure 1B). Chaque CSG se divise de manière asymétrique selon l'axe antéro-postérieur du germarium pour donner deux cellules filles dont l'une est une nouvelle CSG qui reste en contact avec les cellules de la coiffe, et l'autre un cystoblaste situé plus postérieurement. Deux caractéristiques supplémentaires permettent de distinguer un cystoblaste d'une CSG: (1) cette cellule se met à exprimer une protéine appelée BAM (*bag of marbles*), nécessaire à son développement [7]; et (2) elle n'hérite que d'un tiers du spectrosome – une structure cytoplasmique riche en membranes et précurseur du fusome – qui est la marque la plus visible de l'asymétrie d'une telle division [8]. Un cystoblaste se divise ensuite 4 fois de manière incomplète pour donner un cyste de 16 cellules toutes reliées par des ponts cytoplasmiques. Ce cyste poursuit ensuite sa maturation en se déplaçant vers le pôle postérieur du germarium où il est enveloppé par des cellules folliculaires pour former

* Les termes « germarium, ovarioles, cystoblastes... » issus de la littérature anglo-saxonne et qui désignent des structures cellulaires précises ont été gardés.

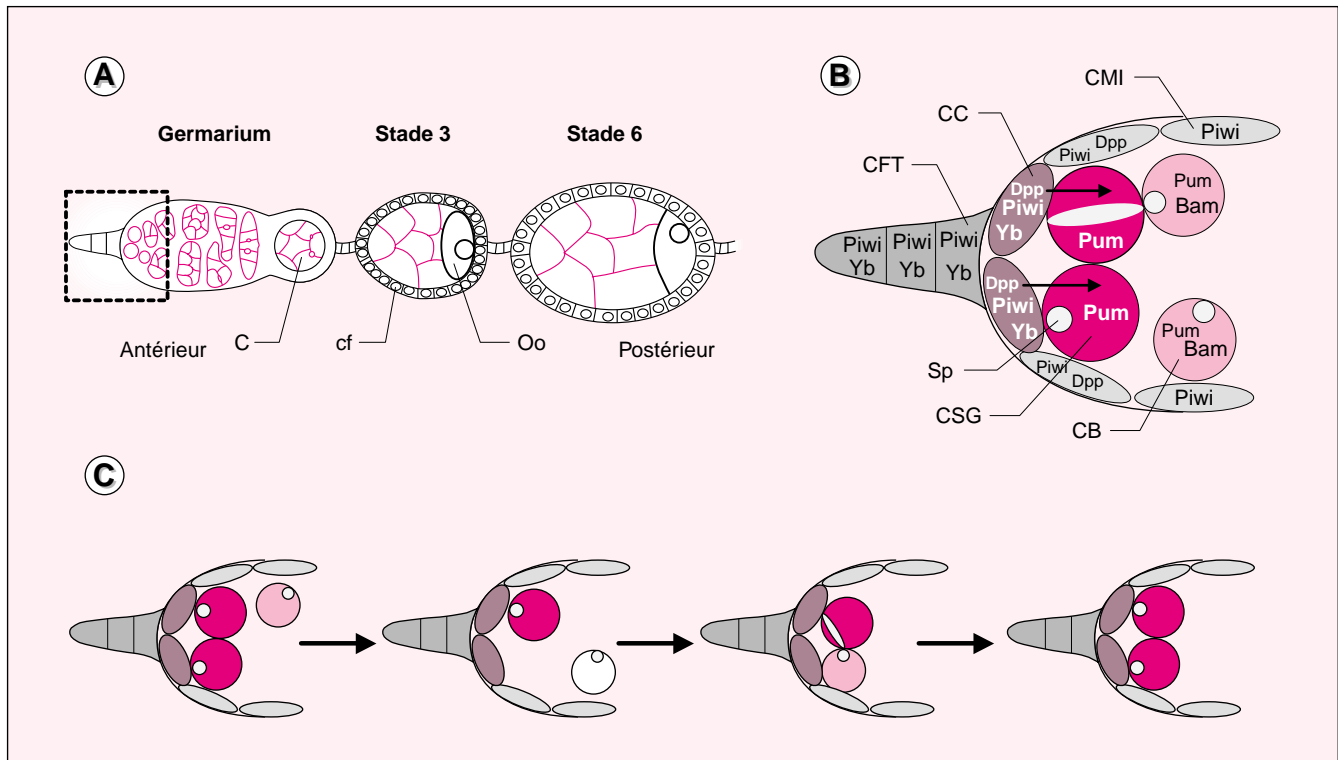


Figure 1. **Maintien des CSG lors des étapes précoces de l'ovogenèse.** **A.** Schéma de la partie antérieure d'une ovariole, représentant les premiers stades de l'ovogenèse. **B.** Agrandissement de la région 1 du germarium où se situent les CSG. Les cellules somatiques créent un microenvironnement (une « niche »), en utilisant la voie de signalisation Dpp, qui permet de maintenir les CSG. Piwi est exprimé dans toutes les cellules du germarium mais est principalement requis dans les cellules somatiques. Yb est spécifiquement exprimé dans les CFT et CC. Chaque CSG se divise de manière asymétrique par rapport au spectrosome, le CB n'héritant que d'un tiers du spectrosome. Après division seule la CSG reste dans la niche, le CB ne contacte que les CMI. **C.** Modèle expliquant le remplacement des CSG. Lorsqu'une CSG non marquée se différencie en CB et quitte la niche, une CSG voisine marquée (rouge) se divise perpendiculairement à l'axe du germarium. La cellule fille produite occupe la place laissée vide et contacte les CC, qui induisent sa différenciation en CSG. CSG: cellule souche de la lignée germinale; CB: cystoblaste; CFT: cellule du filament terminal; CC: cellule de la coiffe; CMI: cellule du manteau intérieur; Sp: spectrosome (adapté de [4]).

une chambre ovarienne et continuer son développement dans le vitellarium [9].

L'étude des mutants *piwi* et *fs(1) Yb* (*Yb*) a démontré que les cellules somatiques pouvaient influencer les CSG [10-13]. En effet, des drosophiles femelles homozygotes pour l'une de ces mutations ne produisent que quelques chambres ovariennes avant de perdre toutes les cellules germinales. Au stade larvaire, l'étape de multiplication des cellules germinales est pourtant normale et les jeunes femelles possèdent un nombre correct de cellules présentant toutes les caractéristiques moléculaires d'une cellule souche [11, 13]. L'hypothèse la plus probable est donc que, chez ces mutants, les CSG

se sont directement différenciées en cystoblastes sans reproduire de cellules souches. Dans un second temps, les auteurs ont recherché dans quelles cellules ces gènes étaient nécessaires. En utilisant le système FLP/FRT [14, 15], ils ont induit des clones de cellules homozygotes pour chacune de ces mutations. Ces clones sont facilement identifiés par la perte d'un marqueur ubiquitaire tel que la β -galactosidase ou la GFP (*green fluorescent protein*) (figure 2). Cette méthode a plusieurs avantages: (1) elle permet d'étudier des mutations létales, puisque seules les cellules clonales sont homozygotes pour la mutation; le reste de l'organisme est hétérozygote donc viable; (2) dans un même germarium peuvent exister

l'une à côté de l'autre des CSG mutantes et sauvages, ces dernières servant de témoins internes; (3) il est possible de quantifier la durée de vie des cellules clonales [16]. De manière inattendue, les CSG homozygotes pour *piwi* ou *Yb* produisent des cystes normaux et ont une durée de vie comparable à leur équivalent hétérozygote. De même, la présence de clones homozygotes dans les cellules folliculaires n'induit aucun phénotype. Les auteurs en déduisent, par défaut, que *piwi* et *Yb* sont seulement nécessaires dans les cellules somatiques qui entourent les CSG [11, 13]. L'effet non autonome de ces mutations démontre ainsi l'existence d'un signal provenant des cellules somatiques, nécessaire au maintien

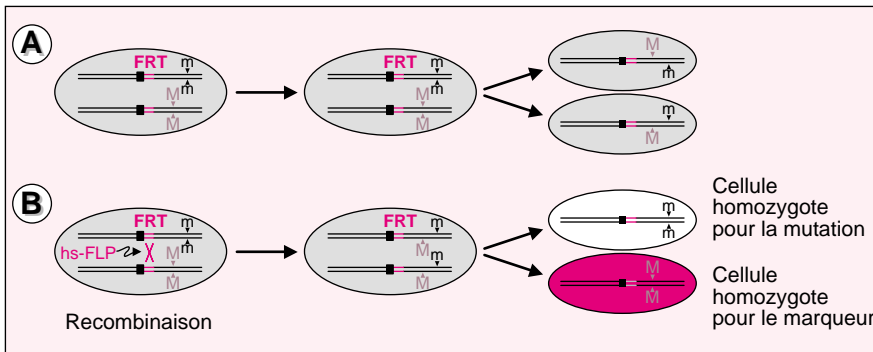


Figure 2. **Le système FLP/FRT.** La FLP (recombinase de levure) induit une recombinaison entre deux chromosomes homologues à des séquences spécifiques (FRT) situées près du centromère de chaque bras de chromosome. **A.** En absence de la FLP, il n'y a pas de recombinaison. Après la mitose, chaque cellule fille hérite d'un bras de chaque chromosome homologues et est ainsi hétérozygote pour la mutation (m) et pour le marqueur (M). **B.** En présence de la FLP, une recombinaison a lieu avant la mitose entre deux bras des chromosomes homologues au niveau des séquences FRT. Après division, une cellule mère a donc 50 % de chances de produire une cellule fille homozygote pour la mutation et une cellule fille homozygote pour le marqueur FRT : séquences spécifiques cibles de la recombinase FLP.

de la lignée germinale. Malheureusement, il est pour le moment impossible d'induire, de façon spécifique, des clones mutants dans ces cellules car elles sont mitotiquement inactives. Il est donc, d'une part, difficile de démontrer un rôle direct de ces cellules, et d'autre part, de déterminer lesquelles parmi les cellules du filament terminal, de la coiffe ou du manteau intérieur, émettent ce signal somatique. Par ailleurs, le gène *piwi* codant pour une protéine nucléoplasmique et *Yb* pour une protéine cytoplasmique, il apparaît évident que ces protéines ne sont pas le signal lui-même [12, 13]. De plus, on ne peut prédire leur fonction car leur séquence ne présente pas de domaine fonctionnel connu.

Un troisième acteur, celui-là bien mieux connu en biologie du développement est impliqué dans le maintien des CSG : il s'agit du gène *decapentaplegic (dpp)* ([16] et *m/s 1999, n° 1, p. 1279*). DPP appartient à la famille des TGF- β et est l'homologue de BMP2/4 (*bone morphogenic protein*) chez les vertébrés. DPP est un morphogène capable de diffuser et d'induire différentes identités cellulaires sur une distance de plusieurs cellules [17]. La surexpression de *dpp* dans les cellules somatiques du ger-

marium provoque une prolifération excessive des CSG qui, après plusieurs jours d'exposition, peuvent atteindre le nombre de 50 ou 60 par germarium. Cependant, des CSG mutantes pour *dpp* ne présentent aucun phénotype particulier. La voie de signalisation de *dpp* étant bien connue, les auteurs ont ensuite montré que les récepteurs de DPP tels que *saxophone (sax)*, *thick veins (tkv)* et *punt*, et des relais positifs de la voie tels que *mother against dpp (mad)* et *Medea (Med)* étaient aussi nécessaires au maintien des CSG, mais étaient cette fois nécessaires dans la lignée germinale. En effet, des CSG mutantes pour l'un de ces gènes ont une demi-vie souvent réduite à moins d'une semaine, alors que les CSG hétérozygotes témoins ont en moyenne une demi-vie de 4,6 semaines. Inversement, des CSG mutantes pour le gène *daughter against dpp (Dad)*, un relais négatif de la voie, ont une demi-vie nettement allongée, supérieure à 6 semaines. *dpp* agit donc directement sur les CSG sans mécanisme relais intermédiaire et cela fait de *dpp* un bon candidat pour être le signal d'origine somatique. Malheureusement, de même que pour *piwi* ou *Yb*, il n'est pas possible d'obtenir des clones

pour *dpp* dans les 3 types cellulaires entourant les CSG. De plus, la relation entre la voie *dpp* et *piwi* ou *Yb* n'est pas très claire, puisqu'une surexpression somatique de *piwi* n'induit qu'une augmentation modeste du nombre de CSG contrairement à celle de *dpp* [12]. Ainsi, il n'est pas possible de déterminer si *piwi* et *Yb* agissent en amont de *dpp* ou en suivant une voie parallèle. Deux autres gènes, *bam* et *pumilio (pum)*, sont de bons candidats pour agir en aval de la voie *dpp*, dans la lignée germinale. En effet, une surexpression de *bam* dans la lignée germinale provoque la différenciation des CSG en cystoblastes et donc la perte de la lignée germinale [18]. Inversement, des CSG mutantes pour *pum* disparaissent de manière prématurée [10, 19]. Ainsi, *dpp* pourrait régler de manière positive *pum* et de manière négative *bam*. Cependant, la relation entre ces trois gènes est pour l'instant inconnue. Il reste donc à trouver de nombreux acteurs pour mieux comprendre l'origine et les mécanismes d'action de ce signal somatique.

Au cours de ces mêmes expériences, les auteurs remarquent que, même si les CSG mutantes pour un des récepteurs ou un des relais positifs disparaissent rapidement, le germarium contient un nombre constant de cellules souches. De manière surprenante, ces nouvelles CSG sont de génotype sauvage, ce qui démontre que lorsqu'une cellule souche disparaît, une nouvelle cellule voisine peut la remplacer : quelle est l'origine de cette cellule ? Les auteurs montrent que lorsqu'une CSG non marquée vient juste de se différencier en cystoblaste, la CSG voisine se divise toujours de manière asymétrique par rapport au spectrosome, mais cette fois de façon perpendiculaire à l'axe du germarium [4]. La cellule fille ainsi produite occupe la place laissée vide par la précédente CSG et reste en contact avec les cellules de la coiffe (*figure 1C*). L'hypothèse est donc que cette cellule fille est « programmée » pour devenir une CSG plutôt qu'un cystoblaste par les cellules environnantes qui formeraient alors une « niche ». Au sens strict, une niche est un microenvironne-

ment capable de contrôler les cellules qui s'y trouvent, et ce indépendamment de leur présence ou non. Ainsi, pour trouver les véritables constituants de cette niche, les auteurs étudient si la perte forcée ou naturelle des CSG entraîne des modifications sur un ou plusieurs des 3 types cellulaires somatiques. Les cellules du manteau intérieur disparaissent avec les cellules germinales et le nombre de cellules du filament terminal diminue de moitié en un mois. Seul le nombre des cellules de la coiffe reste corrélé au nombre de CSG, avec 2,5 cellules de la coiffe par CSG. Ceci suggère que les cellules de la coiffe sont les véritables constituants de cette niche. Une démonstration plus directe mais techniquement difficile serait de transplanter au niveau de l'apex du germarium une cellule germinale indifférenciée, telle qu'une cellule germinale primordiale, pour voir si elle devient une CSG. Le renouvellement des CSG grâce à l'existence d'une telle niche permet enfin d'expliquer comment les femelles peuvent produire des oeufs pendant plusieurs mois alors que la demi-vie des CSG n'est que de 4 à 5 semaines [4].

Au cours de la spermatogénèse, les cellules somatiques inhibent la prolifération des cellules souches de la lignée germinale

Chez la drosophile, les premières étapes de la spermatogénèse sont très similaires à celles de l'ovogenèse [20]. A l'apex du testicule, se trouvent 7 à 9 cellules souches de la lignée germinale qui sont ancrées aux cellules du *hub* (CH), des cellules somatiques quiescentes similaires aux cellules de la coiffe (figure 3). Chaque CSG est entourée par deux cellules souches somatiques, appelées cellules progénitrices du cyste (CPC) qui sont elles mêmes ancrées aux cellules du *hub*. Chaque CSG se divise de manière asymétrique selon l'axe antéro-postérieur du testicule pour donner une nouvelle CSG qui reste au contact des cellules du *hub*, et plus postérieurement un gonioblaste, l'équivalent du cystoblaste [21]. Ce gonioblaste se divisera ensuite 4 fois de manière incomplète, pour former un cyste de 16 spermatogonies toutes connectées entre elles. Chaque cellule progénitrice du cyste se divise aussi de manière asymétrique pour donner deux cellules somatiques du

cyste (CSC) qui envelopperont le cyste tout au long de son développement, sans se rediviser. Récemment deux équipes ont montré que chez le mâle, les cellules somatiques contrôlent aussi les divisions des CSG, l'une en étudiant le rôle du récepteur de l'EGFR (*epidermal growth factor*) et l'autre en étudiant le rôle de *raf*, une sérine/thréonine kinase qui fonctionne généralement en aval des récepteurs à tyrosine kinase et plus particulièrement de l'EGFR [5, 6]. Des mutations dans ces 2 gènes donnent des phénotypes quasiment identiques, c'est-à-dire une prolifération cellulaire excessive à l'apex des testicules mutants pour l'un de ces gènes. Ces cellules surnuméraires sont petites, ont un fusome sphérique, n'expriment ni *bam* ni *Notch* et se divisent de manière asynchrone ; il s'agit donc de cellules souches. Une analyse clonale montre que ces deux gènes ne sont pas nécessaires dans la lignée germinale et qu'il suffit d'une seule cellule progénitrice du cyste mutante pour *raf* pour induire un excès de prolifération des CSG [6]. On peut donc en conclure qu'un signal émanant de ces cellules somatiques et dépendant

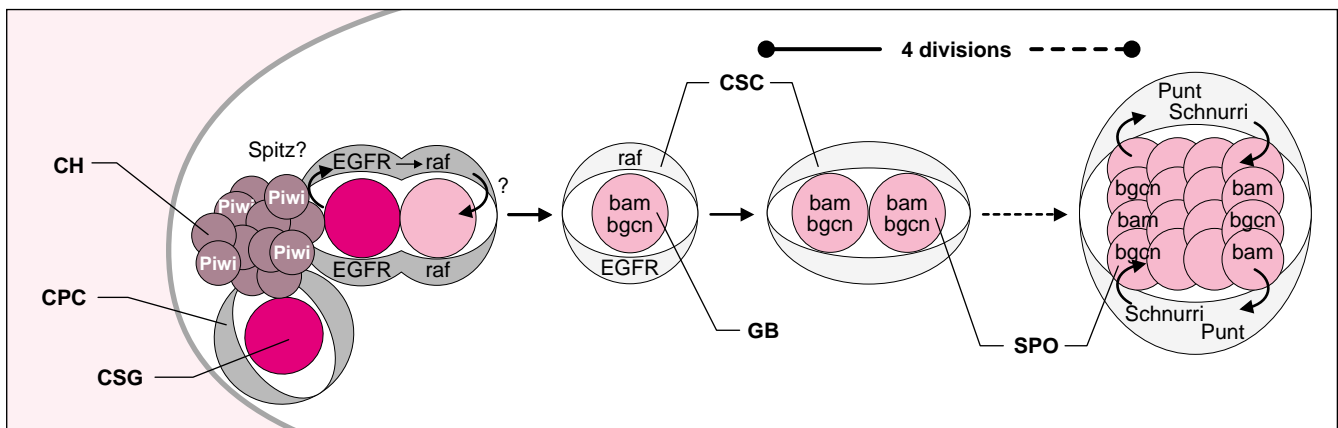


Figure 3. **Modèle des interactions cellulaires pendant les étapes précoces de la spermatogénèse.** Un premier signal provenant des CSG active l'EGFR et la voie raf dans les CPC. En réponse, celles-ci envoient un deuxième signal qui limite la multiplication des CSG et induit la différenciation en gonioblastes. Ainsi, chaque CSG se divise de manière asymétrique. Le premier signal pourrait être spitz alors que la nature du second signal est inconnue. Piwi est nécessaire au maintien des CSG, et est exprimé dans tous les types cellulaires du testicule, en particulier dans les cellules du hub (représenté ici) qui sont les homologues des cellules de la coiffe. Chaque cellule progénitrice du cyste se divise aussi de manière asymétrique pour donner une cellule somatique du cyste mitotiquement inactive. Un GB se divise 4 fois de manière incomplète pour donner un cyste de 16 cellules. punt, schnurri, bam et bgcn limitent le nombre de divisions des spermatogonies; punt et schnurri sont nécessaires dans les CSC alors que bam et bgcn le sont dans les SPO. CH: cellule du hub; CSG: cellule souche de la lignée germinale; GB: gonioblaste; CPC: cellule progénitrice du cyste; CSC: cellule somatique du cyste; SPO: spermatogonies.

de la voie EGF est nécessaire pour induire la différenciation des CSG en gonioblastes. En effet, dans ces tumeurs de CSG le nombre de cellules en division est normal, indiquant que ce n'est pas le rythme des divisions des CSG qui est augmenté mais la capacité à se différencier en gonioblaste qui est affectée. On peut alors se poser deux questions :

- Quelle est l'origine de ce signal EGF ? Une des équipes suggère que SPITZ, un des ligands de l'EGFR, est un candidat possible, mais à pour l'instant comme seul indice le fait que *spitz* est exprimé dans les CSG [5]. Les CSG émettraient donc un premier signal aux cellules progénitrices du cyste qui, en réponse, émettraient elles mêmes un deuxième signal pour limiter la prolifération des CSG. La nature de ce deuxième signal d'origine somatique est pour l'instant totalement inconnue.

- L'apex du testicule forme-t-il une niche ? Les mutations étudiées jusqu'à maintenant induisent une prolifération excessive de la lignée germinale. La perte naturelle ou forcée des CSG n'a pas encore été étudiée. Il reste donc à démontrer que les cellules somatiques entourant les CSG sont capables d'induire le remplacement d'une CSG lorsqu'une de celles-ci se différencie. Il est cependant connu que, dans les testicules agamétiques, les différents types cellulaires somatiques subissent de nombreuses modifications [21].

Ainsi, chez la drosophile, bien que morphologiquement comparables, l'ovogenèse et la spermatogenèse présentent pour l'instant au moins deux différences fondamentales. Premièrement, si dans les deux cas les CSG sont bien soumises à un contrôle somatique, pendant l'ovogenèse, ce signal sert à maintenir la lignée germinale en inhibant la différenciation des CSG en cystoblastes, tandis qu'au cours de la spermatogenèse, ce signal est nécessaire à la différenciation des CSG en gonioblastes. Deuxièmement, bien que plusieurs gènes soient à la fois impliqués dans l'ovogenèse et la spermatogenèse, ils agissent à des étapes différentes. En effet, des mutations dans les gènes *bam* et *hgn* provoquent des tumeurs dans la lignée germinale aussi bien chez le mâle que

chez la femelle [22]. Chez la femelle, ces tumeurs sont formées de cellules souches et de cystoblastes alors que, chez le mâle, il s'agit de spermatogonies qui continuent à se multiplier au lieu de s'arrêter à 4 divisions [7, 23]. De même, au cours de la spermatogenèse, les gènes *punt* et *schnurri* de la voie *dpp* sont nécessaires, à cette même étape, dans les cellules somatiques du cyste pour contrôler le nombre de divisions des spermatogonies [24].

Ainsi, au cours de l'ovogenèse, *bam*, *hgn* et la voie *dpp* sont requis pour la différenciation d'une CSG en cystoblaste, alors qu'au cours de la spermatogenèse, ces gènes sont nécessaires à la différenciation des spermatogonies et à leur entrée en méiose.

Seul *piwi* semble avoir un rôle conservé dans les deux cas, puisqu'il permet le maintien des CSG tant chez le mâle que chez la femelle. La fonction de *piwi* semble de plus conservée au cours de l'évolution : les homologues de *piwi* chez *C. elegans*, *pgr1* et *pgr2*, sont aussi nécessaires au maintien de la lignée germinale ; de même que chez *Arabidopsis*, où ZWILLE, l'homologue de *piwi*, est nécessaire de manière non-autonome, dans les cellules somatiques, pour maintenir les cellules souches du méristème apical végétatif [11]. Enfin, il existe aussi un homologue humain de *piwi*, *hiwi*, mais sa fonction n'est pas connue. On peut cependant noter que, chez l'homme, les cellules de Sertoli sont requises pour le maintien de la lignée germinale mâle, en culture.

Conclusions

Les cellules souches peuvent être maintenues soit au niveau d'une population, contrôlées uniquement par des mécanismes extrinsèques, soit au niveau de chaque cellule, de manière intrinsèque, si elles se divisent de manière asymétrique. Par exemple, chez *C. elegans*, toutes les cellules germinales se divisent de manière symétrique et seules les cellules qui sont au contact d'une cellule somatique unique, située à l'extrémité de chaque gonade, continuent de se diviser au lieu de se différencier [25]. Dans ce cas, les « CSG » sont

maintenues au niveau d'une population, par la voie de signalisation *Notch*, qui joue ici un rôle inductif. En effet, la cellule apicale somatique exprime *lag2* (un homologue de *Delta/Serrate*) alors que toutes les cellules germinales expriment *glp1* (un homologue de *Notch*). A l'opposé, chez la drosophile, la division asymétrique des neuroblastes (cellules souches du système nerveux central) ne repose que sur des mécanismes intrinsèques où des gènes tels que *inscuteable*, *pins*, *bazooka*, ou *par6* sont nécessaires à la ségrégation asymétrique des déterminants cellulaires [3] (*m/s* 2000, n° 10, p. 1092). Comme on vient de le voir, chez la drosophile, des signaux extrinsèques contrôlent la différenciation des CSG alors que des mécanismes intrinsèques font que chaque CSG se divise de manière asymétrique. Cette stratégie intermédiaire est aussi utilisée par les cellules souches des Vertébrés. Les CSG sont donc un excellent modèle d'étude de cellules souches, et il est à espérer que les rapides progrès faits chez la drosophile, grâce aux cribles génétiques systématiques et au séquençage du génome, seront applicables aux vertébrés ■

Remerciements

Je remercie H. Doerflinger, A. Gonzalez-Reyes et K. Litière pour leur commentaires sur ce manuscrit.

RÉFÉRENCES

1. Lin H. The tao of stem cells in the germline *Annu Rev Genet* 1997; 31 : 455-91.
2. Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology *Cell* 1997; 88 : 287-98.
3. Jan YN, Jan LY. Polarity in cell division: what frames thy fearful asymmetry? *Cell* 2000; 100 : 599-602.
4. Xie T, Spradling A. A niche maintaining germline stem cells in the *Drosophila* ovary *Science* 2000; 290 : 328-30.
5. Kiger A, White-Cooper H, Fuller M. Somatic support cells restrict germline stem cell self-renewal and promote differentiation *Nature* 2000; 407 : 750-4.
6. Tran J, Brenner T, DiNardo S. Somatic control over the germline stem cell lineage during *Drosophila* spermatogenesis *Nature* 2000; 407 : 754-7.

RÉFÉRENCES

7. McKearin D, Ohlstein B. A role for the *Drosophila* bag-of-marbles protein in the differentiation of cystoblasts from germline stem cells. *Development* 1995; 121: 2937-47.
8. Deng W, Lin H. Spectrosomes and fusomes anchor mitotic spindles during asymmetric germ cell divisions and facilitate the formation of a polarized microtubule array for oocyte specification in *Drosophila*. *Dev Biol* 1997; 189: 79-94.
9. Spradling A. Developmental genetics of oogenesis in the development of *Drosophila melanogaster*. In: Bate M, Martinez-Arias A, eds. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1993: 1-70.
10. Lin H, Spradling AC. A novel group of pumilio mutations affects the asymmetric division of germline stem cells in the *Drosophila* ovary. *Development* 1997; 124: 2463-76.
11. Cox DN, Chao A, Baker J, Chang L, Qiao D, Lin H. A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. *Genes Dev* 1998; 12: 3715-27.
12. Cox DN, Chao A, Lin H. piwi encodes a nucleoplasmic factor whose activity modulates the number and division rate of germline stem cells. *Development* 2000; 127: 503-14.
13. King FJ, Lin H. Somatic signaling mediated by fs(1)Yb is essential for germline stem cell maintenance during *Drosophila* oogenesis. *Development* 1999; 126: 1833-44.
14. Chou T, Perrimon N. The autosomal FLP-DFS technique for generating germline mosaics in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 1996; 144: 1673-9.
15. Theodosiou N, Xu T. Use of the FLP/FRT system to study *Drosophila* development. *Methods: a companion to Methods in Enzymology* 1998; 14: 355-65.
16. Xie T, Spradling AC. decapentaplegic is essential for the maintenance and division of germline stem cells in the *Drosophila* ovary. *Cell* 1998; 94: 251-60.
17. Lawrence PA, Struhl G. Morphogens, compartments, and pattern: lessons from *Drosophila*? *Cell* 1996; 85: 951-61.
18. Ohlstein B, McKearin D. Ectopic expression of the *Drosophila* Bam protein eliminates oogenic germline stem cells. *Development* 1997; 124: 3651-62.
19. Forbes A, Lehmann R. Nanos and Pumilio have critical roles in the development and function of *Drosophila* germline stem cells. *Development* 1998; 125: 679-90.
20. Fuller M. Spermatogenesis in The development of *Drosophila melanogaster*, 1993 (Bate M, Martinez-Arias A, eds.), pp. 71-148, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
21. Gonczy P, DiNardo S. The germ line regulates somatic cyst cell proliferation and fate during *Drosophila* spermatogenesis. *Development* 1996; 122: 2437-47.
22. McKearin D, Spradling A. bag-of-marbles: a *Drosophila* gene required to initiate both male and female gametogenesis. *Genes Dev* 1990; 4: 2242-51.
23. Gonczy P, Matunis E, DiNardo S. bag-of-marbles and benign gonial cell neoplasm act in the germline to restrict proliferation during *Drosophila* spermatogenesis. *Development* 1997; 124: 4361-71.
24. Matunis E, Tran J, Gonczy P, Caldwell K, DiNardo S. punt and schnurri regulate a somatically derived signal that restricts proliferation of committed progenitors in the germline. *Development* 1997; 124: 4383-91.
25. Schedl T. Developmental genetics of the germ line in *C. elegans* II. In: Riddle D, Blumenthal T, Meyer B, Priess J, eds. New York: Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1997: 241-69.

Jean-René Huynh

Wellcome/CRC Institute and Department of Genetics, University of Cambridge, Tennis court Road, Cambridge, CB2 1QR, Royaume Uni.
e-mail: jh272@hermes.cam.ac.uk

TIRÉS À PART

J.R. Huynh.



CNRSFormation
au service de l'Entreprise