

Ségrégation asymétrique de régulateurs de l'identité cellulaire lors de la mitose

Une question fondamentale en biologie du développement concerne la nature des mécanismes par lesquels une cellule mère se divise pour donner naissance à deux cellules filles distinctes (ce dernier critère définit une telle division comme asymétrique) [1]. Deux types de mécanismes permettent de rendre compte d'une différence de destinée entre les deux cellules filles. Ces dernières peuvent être intrinsèquement différentes l'une de l'autre, dès leur naissance, de par la distribution asymétrique d'un ou plusieurs facteur(s) de détermination de l'identité cellulaire (figure 1B et C). Alternativement, cette différence de destinée entre cellules filles peut résulter d'interactions cellulaires postmitotiques, entre

cellules filles ou entre ces dernières et leur environnement (figure 1D et E). Des travaux récents portant sur la formation du système nerveux de la drosophile ont permis d'analyser au niveau moléculaire ces deux types de mécanismes. En particulier, trois articles publiés récemment analysent en détail les mécanismes par lesquels les protéines Numb et Prospero sont distribuées de manière asymétrique lors de la division des cellules précurseurs du système nerveux central, les neuroblastes [2-4]. Les neuroblastes sont des cellules polarisées. Leur face apicale est en contact avec le neuroectoderme. Leur face basale, orientée vers l'intérieur de l'embryon, est juxtaposée au mésoderme. Les neuroblastes se divi-

sent à la manière de cellules souches (figure 2A); chaque neuroblaste se divise pour donner un neuroblaste et une cellule mère ganglionnaire (CMG) qui se divise ultérieurement pour donner naissance à deux neurones et/ou cellules gliales. Les neuroblastes et les CMG diffèrent par leur taille, par l'expression différentielle de nombreux gènes marqueurs et par leur lignage. La division asymétrique des neuroblastes peut être observée *in vitro*, suggérant que des facteurs intrinsèques jouent un rôle essentiel dans cette asymétrie. Quels sont ces facteurs? Les protéines Numb, dont l'activité moléculaire n'est pas connue, et Prospero, un facteur de transcription, sont synthétisées dans le neuroblaste, accumulées

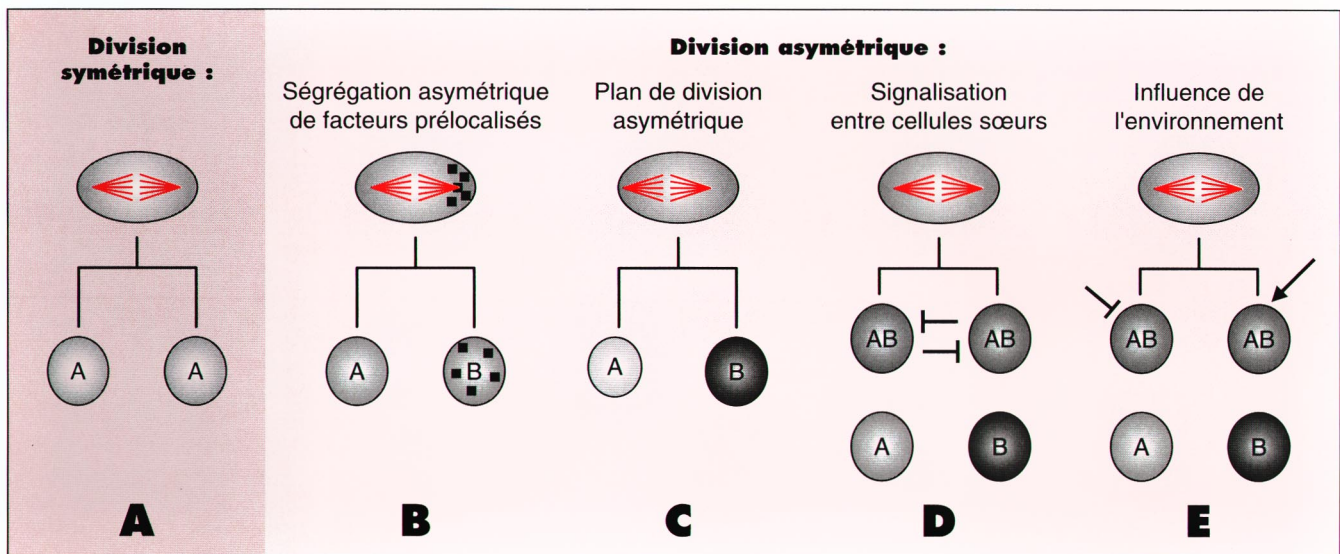
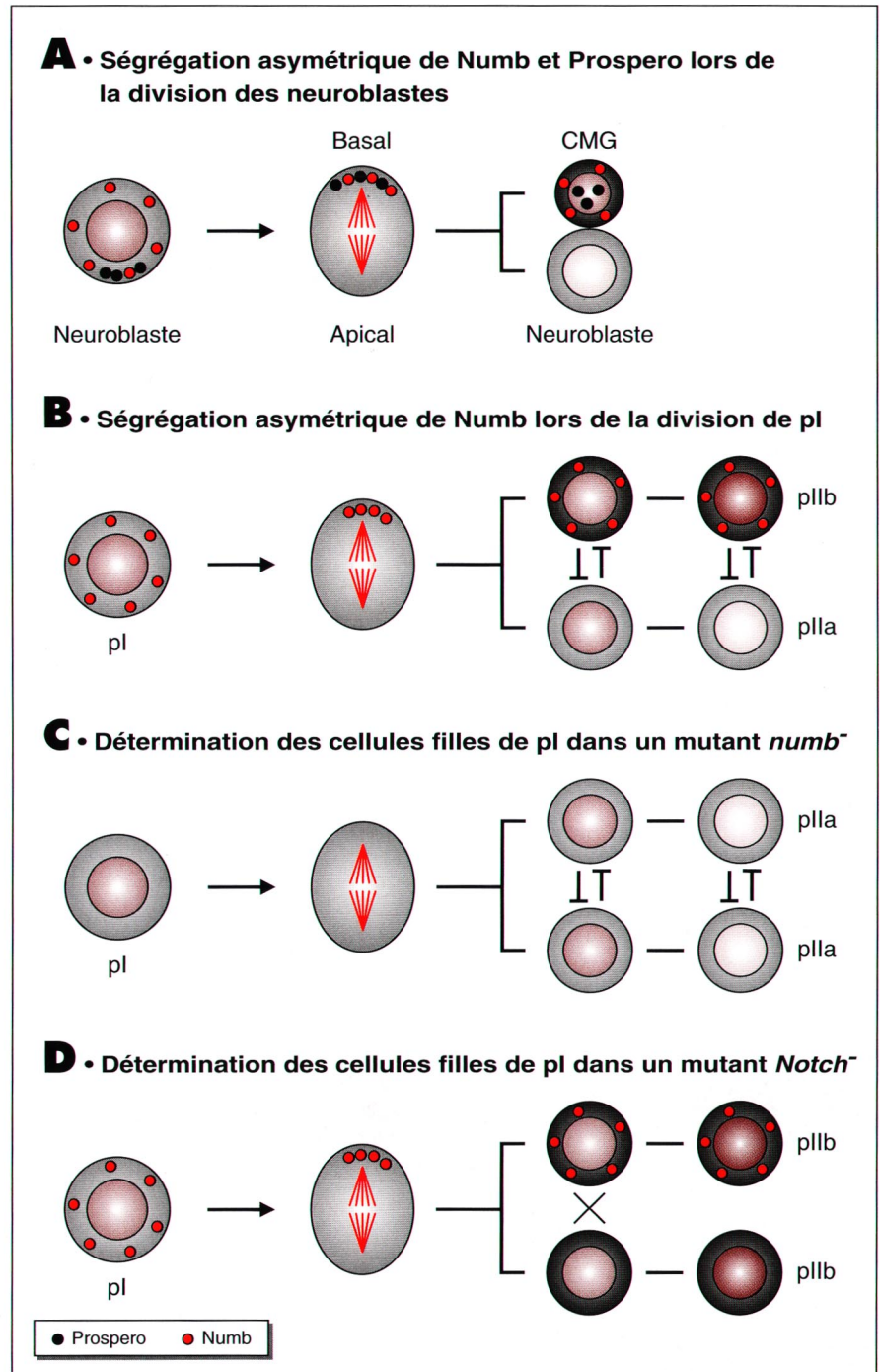


Figure 1. **Divisions cellulaires symétriques et asymétriques.** A. Division symétrique. B. Ségrégation asymétrique des facteurs qui déterminent les identités cellulaires A et B lors de la mitose. C. Asymétrie du plan de division, produisant deux cellules aux propriétés distinctes. D. Asymétrie résultant d'interactions mutuelles entre deux cellules filles initialement équivalentes. E. Asymétrie créée par interaction avec un environnement anisotropiques (adapté de [1]).

Figure 2. **Divisions asymétriques des cellules précurseurs du système nerveux central et périphérique: rôles de Numb et Prospero.** **A.** Distribution de Numb et Prospero lors de la division des neuroblastes. Chaque neuroblaste se divise pour donner un neuroblaste et une cellule mère ganglionnaire (CMG). Les protéines Numb, dont l'activité moléculaire n'est pas connue, et Prospero, un facteur de transcription, sont synthétisées dans le neuroblaste, accumulées au pôle basal en début de mitose et reçues en héritage par la CMG lors de la division du neuroblaste. **B.** Distribution de Numb lors de la division des cellules précurseurs des organes mécano-sensoriels (*pl*). La détermination des cellules filles de *pl*, *plla* et *pllb*, repose sur une combinaison de mécanismes intrinsèques (ségrégation asymétrique de Numb) et extrinsèques (interaction cellulaire mutuelle inhibitrice reposant sur l'activation du récepteur transmembranaire Notch). Numb pourrait être spécifiquement héritée par *pllb*. **C.** Effet de la mutation *numb* sur la détermination des cellules filles de *pl*. La ségrégation asymétrique de Numb est indispensable pour la détermination de *pllb*. En son absence, on n'observe que des précurseurs secondaires *plla*. **D.** Effet de la mutation Notch sur la détermination des cellules filles de *pl*. Le récepteur Notch est impliqué dans l'échange réciproque de signaux inhibiteurs, et son activité est strictement requise pour la détermination de *plla*. En l'absence de cette signalisation, les deux cellules sœurs ont une destinée de *pllb*.



au pôle basal en début de mitose et reçues en héritage par la CMG lors de la division du neuroblaste (figure 2A). Comment est contrôlée leur localisation polarisée lors de la mitose? Quel est leur rôle dans la détermination du destin de CMG? Spana et Doe (Urbana, IL, USA), Knoblich *et al.* (San Francisco, CA, USA) et

Hirata *et al.* (Tokyo, Japon) ont décrit la distribution de Prospero au cours de cette mitose et analysé les mécanismes réglant sa distribution polarisée au cortex de la cellule (figure 2A) [2-4]. En outre, Knoblich *et al.* ont également étudié la ségrégation asymétrique de Numb [3]. La protéine Prospero est synthétisée

par le neuroblaste en phase S et/ou G2, et est accumulée au cortex apical en phase G2. L'entrée du neuroblaste en métaphase s'accompagne de la redistribution rapide de Prospero du cortex apical au cortex basal, à l'aplomb du centrosome de la future CMG. De cette localisation résulte la ségrégation quasi exclusive de Pros-

pero dans la CMG. Dans cette dernière, le facteur de transcription Prospero est localisé de manière prédominante dans le noyau. Numb semble distribuée de manière identique à Prospero dans le neuroblaste en division. A la différence de Prospero, Numb reste cytoplasmique, de manière non polarisée, dans la CMG. La colocalisation de Prospero et Numb lors de la mitose suggère que la localisation au cortex basal de l'une des deux protéines pourrait diriger la localisation de la seconde. Spana et Doe et Knoblich *et al.* ont montré que ce n'était pas le cas [2-3]: Prospero ou Numb sont localisées au cortex basal des neuroblastes dans un embryon mutant respectivement pour *numb* ou *prospero*. En revanche, la localisation au cortex basal dépend de l'activité de String, l'homologue chez la drosophile de la phosphatase CDC25 de *S. pombe* qui active la kinase p34^{cdk1}. En l'absence de String, Prospero est détecté au cortex apical et dans le noyau (Knoblich *et al.* citent un résultat formellement similaire pour Numb: dans le mutant *string*, Numb serait localisée à la membrane de manière non polarisée [3]). Dans un mutant *string*, le défaut d'activation de p34^{cdk1} bloque les neuroblastes en phase G2 du cycle mitotique. De plus, une fragmentation apparente du matériel centrosomique est observée. Ainsi, la localisation de Prospero au cortex basal requiert l'activité phosphatase de String, l'entrée en mitose et/ou la présence de centrosomes intègres. Le rôle des centrosomes et du cytosquelette a été étudié plus en détail par Knoblich *et al.* pour la localisation de Numb et/ou Prospero [3]. Dans le mutant *pebble*, la division du neuroblaste n'est pas suivie de la séparation des deux cellules filles: il en résulte une cellule contenant deux noyaux et quatre centrosomes. Dans ces cellules, Numb est distribuée en croissant à proximité des deux centrosomes situés au pôle basal de la cellule. Est-ce que pour autant la localisation de Numb (et Prospero) dépend de la position des centrosomes, *via* les microtubules? Il semble que tel ne soit pas le cas. Les neuroblastes d'embryons perméabilisés et incubés en présence de colcémide,

un produit conduisant à la dépolymérisation des microtubules, à la délocalisation des centrosomes et au blocage en métaphase de la division des neuroblastes, conservent une distribution polarisée de Numb et Prospero. De manière remarquable, ces neuroblastes interprètent de manière correcte l'information de polarité de leur environnement: Numb et Prospero restent localisées au pôle basal de ces neuroblastes dépourvus de microtubules. Ce résultat suggère que Numb, Prospero et le centrosome basal pourraient interpréter de manière indépendante la même information de position présente dans le cortex basal. Cette hypothèse conduit naturellement à s'interroger sur le rôle des filaments corticaux d'actine. Les neuroblastes d'embryons perméabilisés et incubés en présence de cytochalasine D, produit qui conduit à la fragmentation des filaments d'actine et à l'arrêt de la cytokinèse, maintiennent une distribution polarisée de Numb et Prospero (l'effet de ce produit sur la position des centrosomes n'a pas été analysé par ces auteurs). La distribution polarisée de Numb et Prospero ne dépend donc pas non plus du réseau d'actine. Cependant, la distribution polarisée de Numb ne respecte plus aussi bien la polarité du tissu environnant, suggérant que les microfilaments d'actine pourraient participer à l'interprétation de la polarité environnante.

Ainsi, ces travaux suggèrent que la localisation de Numb et Prospero pourrait résulter de la localisation asymétrique préalable de récepteurs spécifiques. Les travaux d'Hirata *et al.* ouvrent une piste intéressante vers l'identification de tels récepteurs [4]. Ces auteurs ont analysé la localisation polarisée de protéines de fusion comprenant la β -galactosidase d'*E. coli* et différentes régions de Prospero. Cette approche a permis de définir une région de 32 acides aminés nécessaires à la localisation de la protéine de fusion Prospero- β -galactosidase au pôle basal du neuroblaste en mitose (une région de 118 acides aminés, incluant ces 32 acides aminés, étant suffisante). Au sein de ces 32 acides aminés, ces auteurs ont identifié un motif de 12 acides aminés, présent

également dans la séquence de la protéine Numb (Numb et Prospero ne présentent pas d'autre similitude de séquence notable). Pourrait-il s'agir d'une surface d'interaction avec le récepteur, éventuellement commun à Numb et Prospero, responsable de la localisation basale de ces protéines lors de la mitose? La réponse à cette question ne tardera probablement pas. Resteront alors à identifier les mécanismes contrôlant la polarité tissulaire et contrôlant la localisation asymétrique de l'activité d'un tel récepteur, ainsi que ceux qui règlent les changements rapides de localisation de Numb et Prospero au cours du cycle cellulaire. Enfin, la caractérisation d'une telle activité pourrait également permettre de mieux comprendre comment l'un des deux centrosomes est positionné au pôle basal du neuroblaste.

La ségrégation asymétrique de Numb et Prospero est-elle importante pour la détermination des cellules filles du neuroblaste? Probablement, oui. En l'absence du facteur de transcription Prospero, la CMG change de programme génétique: les gènes *fushi tarazu* et *even-skipped*, normalement exprimés dans un petit nombre de CMG, ne sont plus activés. Inversement, la transcription des gènes *deadpan* et *asense*, normalement exprimés dans les neuroblastes mais pas dans les CMG, n'est pas réprimée. Ces données suggèrent que Prospero joue un rôle important dans la définition de l'identité des CMG [5], mais n'impliquent pas nécessairement que sa distribution asymétrique soit requise pour sa fonction. Pour répondre à cette question, il conviendrait d'analyser les conséquences de l'expression persistante de *prospero* dans la cellule fille qui conserve une identité de neuroblaste. Qu'en est-il de Numb? L'absence de Numb n'entraîne aucune anomalie détectable dans le développement des CMG, suggérant que Numb ne participe pas à la détermination de ces cellules filles [6]. Toutefois, il reste là encore à déterminer la conséquence d'une expression persistante de *numb* dans le neuroblaste fille.

En fait, il est très probable que Prospero et Numb contribuent à établir

une distinction d'identité cellulaire entre le neuroblaste et la CMG. En effet, la localisation polarisée de Prospero et Numb est observée lors des divisions asymétriques de cellules épithéliales dans plusieurs tissus chez la drosophile [2, 4, 7]. De plus, Numb joue un rôle essentiel dans la division asymétrique de la cellule MP2 dans le système nerveux central de l'embryon [6] et celle des cellules précurseurs (pI) des organes mécanosensoriels (figure 2B). La détermination des cellules filles de pI, pIIa et pIIb, repose sur une combinaison de mécanismes intrinsèques et extrinsèques (figure 1B et D). La ségrégation asymétrique de Numb (figure 2B) est requise pour la détermination de la cellule pIIb: dans un mutant *numb*^{-/-}, les deux précurseurs secondaires adoptent une identité caractéristique de pIIa [7] (figure 1C).

A ce mécanisme intrinsèque se superposent des interactions cellulaires mutuelles inhibitrices reposant sur l'activation du récepteur transmembranaire Notch [8]. Notch est le récepteur d'une famille de protéines transmembranaires. L'interaction entre Notch et l'un de ses ligands semble bloquer la différenciation cellulaire [9] (voir l'article de F. Schweisguth et A. Israël, p. 155 de ce numéro). Le récepteur Notch est généralement impliqué dans l'échange réciproque de signaux inhibiteurs. Par le biais de boucles d'autorégulation, ce mécanisme de signalisation réciproque, appelé inhibition latérale, permet d'établir des différences stables au sein de groupes de cellules initialement équipotentes [10, 11]. A *fortiori*, ce mécanisme permet également de renforcer des différences faibles entre ces cellules, voire entre cellules sœurs. Les ligands et la voie de signalisation empruntée par les récepteurs de la famille Notch semblent avoir été conservés au cours de l'évolution du nématode à l'homme [9], suggérant qu'un tel mécanisme d'inhibition latérale puisse participer au développement embryonnaire des vertébrés. L'activité du récepteur Notch est strictement requise pour la détermination de pIIa [8]: en l'absence de signalisation par Notch (dans un mutant *Notch* par exemple), ces deux cellules sœurs ont une desti-

née de pIIb (figure 2D). Par conséquent, l'adoption de l'identité pIIa semble dépendre d'un signal émis par la future cellule pIIb et dont Notch serait le récepteur [8].

Quel pourrait être alors le rôle de Numb? Numb pourrait moduler négativement la réception du signal d'inhibition latérale entre les deux cellules filles. Ainsi la ségrégation asymétrique de Numb, interprétant une information de polarité du tissu épithélial, introduirait un léger biais dans la signalisation mutuelle relayée par Notch. Cette différence initiale serait ensuite amplifiée par inhibition latérale et permettrait à une cellule, toujours la même telle qu'imposée par la polarité du tissu, de devenir pIIa. Ainsi Numb créerait un biais initial reproductible en interférant dans la future cellule pIIb avec l'effet inhibiteur de la signalisation par Notch [6, 12]. Le mécanisme par lequel Numb modifierait l'effet de la signalisation par Notch n'est pas connu. Numb pourrait-il jouer un rôle similaire dans la décision neuroblaste ou CMG? Possible, mais cela impliquerait que Notch (ou un autre mécanisme de communication intercellulaire modulé par Numb) participe également au contrôle de cette division asymétrique. L'étude des activités moléculaires des protéines Prospero et Numb permettront sans doute d'analyser les relations complexes entre polarité et détermination cellulaire. Nul doute que ces mécanismes moléculaires fondamentaux identifiés chez la drosophile seront conservés chez les mammifères ■

François Schweisguth

Institut Jacques-Monod. Cnrs – Université Paris-VII, 2, place Jussieu, 75251 Paris Cedex 05, France.

TIRÉS À PART

F. Schweisguth.

RÉFÉRENCES

1. Horvitz HR, Herskovitz I. Mechanisms of asymmetric cell division: two Bs or not two Bs, that is the question. *Cell* 1992; 68: 237-55.
2. Spana EP, Doe CQ. The prospero transcription factor is asymmetrically localized to the cell cortex during neuroblast mitosis in *Drosophila*. *Development* 1995; 121: 3187-95.
3. Knoblich JA, Jan LY, Jan YN. Asymmetric segregation of Numb and Prospero during cell division. *Nature* 1995; 377: 624-7.
4. Hirata J, Nakagoshi H, Nabeshima YI, Matsuzaki F. Asymmetric segregation of the homeodomain protein Prospero during *Drosophila* development. *Nature* 1995; 377: 627-30.
5. Doe CQ, Chu-Lagraff Q, Wright DM, Scott MP. The prospero gene specifies cell fates in the *Drosophila* central nervous system. *Cell* 1991; 65: 451-64.
6. Spana EP, Koczynski C, Goodman CS, Does CQ. Asymmetric localization of numb autonomously determines sibling neuron identity in the *Drosophila* CNS. *Development* 1995; 121: 3489-94.
7. Rhyu MS, Jan YL, Jan YN. Asymmetric distribution of Numb protein during division of the sensory organ precursor cell confers distinct fates to daughter cells. *Cell* 1994; 76: 477-91.
8. Posakony JW. Nature versus Nurture: asymmetric cell divisions in *Drosophila* development. *Cell* 1994; 76: 415-8.
9. Artavanis-Tsakonas S, Matsuno K, Fortini ME. Notch signaling. *Science* 1995; 268: 225-32.
10. Heitzler P, Simpson P. The choice of cell fate in the epidermis of *Drosophila*. *Cell* 1991; 64: 1083-92.
11. Schweisguth F, Israël A. Signalisation intercellulaire par le récepteur Notch: conservation de la drosophile au mammifère. *médecine/sciences* 1996; 12: 1155-63.
12. Jan YL, Jan YN. Maggot's hair and bug's eye: role of cell interactions and intrinsic factors in cell fate specification. *Neuron* 1995; 14: 1-5.