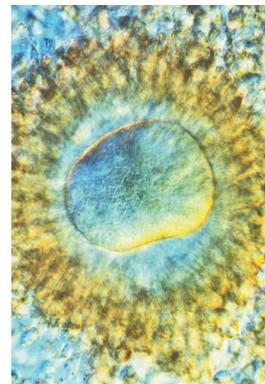


> L'étude chromosomique des ovocytes humains issus d'échecs de fécondation *in vitro*, constitue une approche directe des mécanismes de non-disjonction chromosomique, malgré les difficultés techniques inhérentes à l'analyse de ces cellules. Une étude réalisée sur un vaste échantillon de 1 397 caryotypes ovocytaires a permis de réaliser une analyse fiable et précise de la corrélation existant entre la formation méiotique de ces anomalies et l'âge maternel. Deux modes de non-disjonction méiotique ont été identifiés : la non-disjonction classique de chromosomes entiers et un type particulier de séparation prématurée des chromatides aboutissant à la transmission méiotique de chromatides isolées. Ces deux formes de non-disjonction sont corrélées à l'âge maternel, mais il apparaît que la corrélation est beaucoup plus significative pour le mode de séparation prématurée des chromatides. Ce phénomène constitue donc un mécanisme essentiel de non-disjonction dans le sexe féminin, et pourrait être lié à une perte progressive de la cohésion moléculaire assurée par des protéines spécifiques (les cohésines) entre les chromatides homologues. <

Âge maternel et anomalies chromosomiques dans les ovocytes humains

Franck Pellestor



Institut de Génétique humaine,
 CNRS UPR 1142,
 141, rue de la Cardonille,
 34396 Montpellier Cedex 5,
 France.

franck.pellestor@igh.cnrs.fr

dence la diminution, voir l'absence de recombinaisons méiotiques pour les chromosomes impliqués dans les trisomies [2, 3], suggérant que le profil de recombinaison était un facteur important de prédisposition à la non-disjonction méiotique. Des études plus récentes ont démontré l'existence d'une corrélation entre la position des chiasmata sur les chromosomes et la survenue des non-disjonctions de première division méiotique [4]. Ainsi, les échanges proximaux, proches du centromère, conféreraient aux chromosomes une capacité de ségrégation méiotique bien meilleure que les échanges chiasmatisques distaux, plus éloignés du centromère. Dans ce contexte, l'effet de l'âge maternel porterait sur la dégradation de facteurs cellulaires nécessaires à la formation et au fonctionnement du fuseau méiotique. En 1994, R.S. Hawley et al. [5] suggéraient que la capacité ovocytaire à former un fuseau opérationnel pouvait diminuer avec l'âge maternel. Dans les ovocytes «âgés», les anomalies de formation ou de fonctionnement du fuseau pourraient ainsi favoriser la non-disjonction des chromosomes homologues sans chiasma ou avec des chiasmata distaux (→).

(→) m/s
 1996, n° 3,
 p. 411

L'âge maternel est le seul facteur étiologique dont le lien avec les anomalies chromosomiques de nombre (les aneuploïdies) est reconnu sans équivoque. Les non-disjonctions dépendantes de l'âge maternel intéressent l'ensemble des chromosomes (autosomes et gonosomes). Les plus représentatives sont constituées par les trisomies des chromosomes 13, 15, 16, 18 et 21, pour lesquelles l'origine maternelle du chromosome surnuméraire est largement prépondérante (93 % pour les trisomies 18 et 21; 100 % pour la trisomie 16) [1]. La majorité des aneuploïdies d'origine maternelle a pour cause une erreur de ségrégation survenue *de novo* lors de la première division méiotique. Des études moléculaires familiales réalisées pour différentes trisomies ont mis en évi-

Difficultés de l'analyse cytogénétique des ovocytes humains

Bien que les études moléculaires menées sur des organismes aussi divers que la levure, la drosophile, la souris ou l'homme [6, 7] soient en faveur de l'hypothèse d'une corrélation directe entre la position chromosomique des chiasmas, la non-disjonction méiotique et l'âge maternel, aucune conclusion définitive n'avait pu être avancée chez l'homme, du fait des données contradictoires tirées de l'analyse chromosomique des ovocytes humains. Chaque ovocyte mature étant le produit fini et unique de la méiose, l'examen chromosomique de ces cellules constitue l'approche la plus directe pour une étude des anomalies chromosomiques survenues au cours de la méiose. De plus, cet examen n'est pas influencé par les paramètres de viabilité ou de perte embryonnaire précoce associés à l'étude des produits d'avortement et des nouveau-nés. Toutefois, l'analyse chromosomique des ovocytes humains présente deux écueils importants. Premièrement, les ovocytes analysés sont généralement des cellules issues d'échecs de fécondation *in vitro* (FIV). Ceci sous-entend le recours à des protocoles d'hyperstimulation ovarienne et à plusieurs étapes de manipulation et de culture *in vitro*, pouvant constituer des sources potentielles de biais d'analyse. Bien qu'aucune étude n'ait identifié à ce jour de véritables corrélations entre les paramètres des protocoles FIV et le nombre d'anomalies chromosomiques ovocytaires, il est important de ne jamais perdre de vue que les ovocytes analysés constituent une population particulière [8]. Deuxièmement, le caryotype ovocyttaire est limité par la morphologie même des chromosomes d'ovocytes. Leur forte compaction et l'aspect « ondulé » de leurs bras chromosomiques (Figure 1) rendent difficile le recours aux techniques de *banding* chromosomique et l'identification précise de chaque chromosome. Les études entreprises se sont généralement bornées à une simple numération des chromosomes ovocytaires après coloration au Giemsa, et n'ont porté que sur un nombre restreint de métaphases (65 en moyenne), ne permettant pas une analyse réellement fiable de l'effet de l'âge maternel. Les résultats publiés sont donc très contradictoires et critiquables. Le caractère approximatif de ces investigations est clairement apparu lorsque R.R. Angell [9, 10] a mis en évidence un type particulier de non-disjonction, jusque-là passé inaperçu, dans les ovocytes humains. Il s'agit de la séparation prématurée des chromatides homologues lors de la première division méiotique. Cette séparation conduit à la présence de chromatides libres au sein des métaphases de deuxième division méiotique (Figure 1). Compte tenu de la faible résolution des analyses chromosomiques pratiquées sur les ovocytes humains, ces chromatides libres ont sans doute été très souvent confondus avec des chromosomes acrocentriques, conduisant ainsi à une surestimation de la fréquence et de la distribution des anomalies chromosomiques dans les ovocytes humains. Au cours des dernières années, les techniques d'hybridation *in situ* ont été adaptées à ce matériel, permettant selon les protocoles utilisés, l'identification de deux à six chromosomes, par marquage centromérique, ou le marquage de chaque chromosome par peinture chromosomique (caryotype spectral) [11, 12]. Les résultats de ces investigations sont encore très limités. Cependant, ils font état de taux

d'anomalies chromosomiques étonnamment élevés (de 37 à 45 %), laissant à penser que ces données doivent aussi être considérées avec prudence, compte tenu du nombre restreint de chromosomes identifiés, de la qualité souvent médiocre des métaphases analysées et des risques d'erreur inhérents à l'utilisation *in situ* de sondes d'ADN (hybridation croisée ou artéfactuelle, défaut d'hybridation, superposition des signaux fluorescents). Ainsi, comme l'ont souligné plusieurs auteurs [13, 14], seul l'établissement de caryotypes ovocytaires complets est en mesure de permettre une réelle analyse de la corrélation entre âge maternel et anomalies chromosomiques.

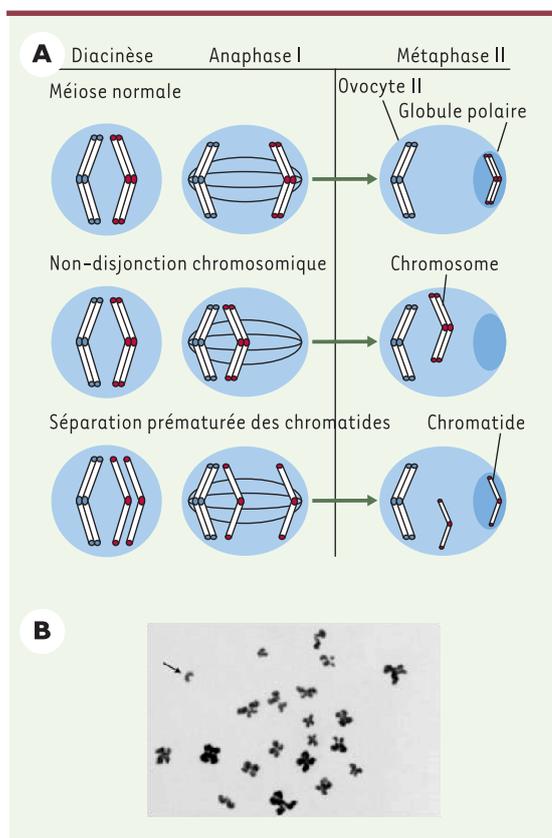


Figure 1. Les non-disjonctions méiotiques ovocytaires.

A. Représentation schématique d'une première division méiotique normale et des deux types de non-disjonction pouvant avoir lieu au cours de cette division. La non-disjonction chromosomique classique aboutit à la présence de deux chromosomes homologues dans la métaphase II, alors que la séparation prématurée d'une paire de chromatides se traduit par la présence d'une (ou de deux) chromatide(s) libre(s) dans la métaphase II. **B.** Exemple d'une métaphase II présentant un chromatide libre (flèche). À noter l'aspect très particulier des chromosomes d'ovocytes rendant leur identification particulièrement délicate.

Nouvelles données chromosomiques

Une telle étude a récemment été réalisée sur un large échantillon de 3042 ovocytes humains non fécondés *in vitro*. Des critères rigoureux de sélection des ovocytes et des métaphases obtenues, ainsi que l'utilisation de techniques de fixation graduelle et de marquage chromosomique en bandes R spécialement adaptées aux ovocytes humains, ont conduit à l'obtention de 1 397 caryotypes ovocytaires complets, issus de 520 femmes âgées de 19 à 46 ans, engagées dans des protocoles de FIV pour diverses formes de stérilité (stérilité tubaire, masculine, idiopathique, immunologique) [15]. La taille de cet échantillon a permis la réalisation d'une étude détaillée, et statistiquement fiable, de la répartition des anomalies chromosomiques, fournissant ainsi les données cytogénétiques nécessaires à une analyse rigoureuse de l'effet de l'âge maternel.

Le taux global d'anomalies chromosomiques observées sur cet échantillon est de 22 %, ce qui constitue une valeur élevée en comparaison des 8 à 10 % d'anomalies trouvées dans les spermatozoïdes humains. Parmi toutes les anomalies recensées (Tableau 1), la fréquence des anomalies numériques des lots haploïdes, c'est-à-dire les aneuploïdies classiques portant sur un ou deux chromosomes, est de 10,8 %, soit une valeur

bien inférieure aux pourcentages parfois exorbitants rapportés précédemment. Le taux d'hypohaploïdies (manque de chromosomes) ne diffère pas significativement du taux d'hyperhaploïdies (excès de chromosomes). Ce point souligne la fiabilité de l'analyse réalisée puisqu'une fréquence élevée d'hypohaploïdies est généralement le reflet de pertes artéfactuelles de chromosomes lors de la fixation des ovocytes.

L'effet de l'âge maternel ayant pu être étudié de 19 à 46 ans, cette étude apporte enfin la preuve directe et irréfutable d'une corrélation entre le vieillissement maternel et la survenue des non-disjonctions dans les ovocytes humains (Figure 2). Mais, l'analyse détaillée des données va bien au-delà de ce simple constat, et fournit de précieuses informations sur la formation des non-disjonctions méiotiques. Deux types d'anomalies numériques constituent l'essentiel des anomalies observées, à savoir les non-disjonctions chromosomiques (perte ou gain d'un chromosome) et les anomalies chromatidiennes directement liées au phénomène de séparation prématurée des chromatides homologues. Le rôle respectif de ces deux mécanismes dans la formation des aneuploïdies a fait l'objet de nombreuses discussions. Ainsi, alors que R.R. Angell [10] affirmait que la séparation chromatidienne était le principal mécanisme de formation des aneuploïdies, d'autres auteurs estimaient que la séparation prématurée des chromatides était essentiellement artéfactuelle [16]. Les résultats obtenus sur les 1 397 caryotypes ovocytaires indiquent que les deux modes d'aneuploïdies coexistent au sein des ovocytes humains. Cependant, la fréquence d'aneuploïdies liées à une séparation des chromatides est significativement plus élevée que la fréquence des non-disjonctions chromosomiques (83 cas de chromatides libres contre 49 cas de non-disjonctions chromosomiques; $\chi^2 = 3,96$; $p < 0,05$). Les deux types d'aneuploïdies sont corrélés avec l'âge maternel, mais le degré de corrélation avec l'âge apparaît significativement plus élevé pour la séparation chromatidienne que pour les non-disjonctions chromosomiques (Figure 3). L'analyse de la répartition des anomalies indique que ce processus de séparation touche plus significativement les chromosomes de petite taille (chromosomes 16, 17, 18, 21 et 22). Cette étude révèle donc que la séparation prématurée des chromatides au cours de la première division méiotique est un processus essentiel de formation des aneuploïdies en relation avec l'âge maternel [15].

La cohésion des chromatides en cause

La cohésion des chromatides en cause

Quel est alors le mécanisme qui sous-tend ce phénomène de séparation des chromatides homologues et quel est son lien avec le vieillissement maternel? Des études moléculaires récentes ont fourni des éléments de réponses compatibles avec la ségrégation chromosomique. Parmi les protéines impliquées dans le

Nombre (Nb) d'ovocytes récupérés	3 042
Nb d'ovocytes analysables	1 397
Nb (%) d'ovocytes avec un caryotype normal 23, X	1 088 (77,9)
Nb (%) d'ovocytes avec un caryotype anormal	309 (22,1)
Nb (%) d'anomalies numériques	280 (20,1)
Nb total (%) d'hypohaploïdies	75 (5,4)
Hypohaploïdies par perte chromosomique	27
Hypohaploïdies par séparation des chromatides	48
Nb total (%) d'hyperhaploïdies	57 (4,1)
Hyperhaploïdies par chromosome surnuméraire	22
Hyperhaploïdies par chromatide surnuméraire	35
Nb total (%) d'aneuploïdies complexes*	12 (0,8)
Nb total (%) d'aneuploïdies extrêmes**	7 (0,05)
Nb total (%) d'anomalies numériques des caryotypes haploïdes	151 (10,8)
Nb (%) de diploïdies	75 (5,4)
Nb (%) de tétraploïdies	1 (0,007)
Nb (%) de lots entiers de chromatides seules	53 (3,8)
Nb d'anomalies structurales	29 (2,1)

Tableau 1. Détails de l'analyse chromosomique réalisée sur 1 397 caryotypes ovocytaires. * Les 12 caryotypes présentent simultanément des anomalies chromosomiques et chromatidiennes. ** Les aneuploïdies extrêmes correspondent à des caryotypes présentant un nombre de chromosome situé entre 13 et 18.

contrôle du déroulement de la méiose et les mouvements des chromosomes sur le fuseau méiotique, une classe particulière de protéines, appelées cohésines, a été identifiée. Leur fonction est de maintenir les chromatides homologues appariés et ainsi de contrebalancer les forces d'attraction exercées par les microtubules, *via* les kinétochores, sur les chromosomes [17]. Cet équilibre est rompu lors de l'anaphase par la lyse des cohésines, sous l'action du complexe promoteur de l'anaphase (APC), donnant ainsi le signal à la ségrégation des chromosomes. L'action des cohésines s'exerce au niveau des centromères, mais aussi sur de nombreux sites le long des bras chromosomiques. La perte partielle ou la dégradation prématurée de ces protéines est responsable de la séparation des chromatides sœurs. Chez la levure, les mutants déficients pour la protéine de cohésion *rec8* présentent un défaut de cohésion des chromatides [18]. Récemment, chez la drosophile, il a été démontré que la protéine de cohésion ORD était indispensable au contact physique des chromatides et à la stabilisation des chiasmata jusqu'au stade anaphase I de la méiose [19]. Par analogie avec ces observations, il est envisageable que chez les mammifères, le même mécanisme de dégradation des cohésines puisse s'opérer en relation avec l'allongement progressif de la prophase de première division méiotique et donc du vieillissement maternel. J. Wolstenholme et R.R. Angell [20] ont postulé que sous l'effet de ce défaut de cohésion, une proportion grandissante d'appariements chromosomiques réalisés en début de méiose devenaient instables, se réorientaient sur le fuseau et adoptaient préférentiellement une configuration linéaire favorisant la ségrégation indépendante des chromatides (Figure 4). À ce phénomène, pourrait s'ajouter la dégradation avec l'âge d'autres protéines ovocytaires associées à la formation du fuseau [21]. On peut supposer que cette perte progressive de cohésion touche tous les chromosomes, mais que pour les chromosomes de grande taille, le nombre plus élevé de chiasmata et de sites de cohésion minimise cette instabilité et limite ainsi l'implication de ces chromosomes dans les non-disjonctions [22]. Un autre élément de contrôle de la cohésion chromatidienne pourrait être la taille des séquences d'ADN répété dans la région centromérique. En effet, il a été montré que les chromatides sœurs de divers chromosomes ne se séparaient pas simultanément mais en fonction de leurs quantités d'hétérochromatine centromérique. L'existence d'une corrélation entre la taille des domaines d'ADN centromérique et les non-disjonctions a été suggérée par plusieurs auteurs [23] et les travaux de K. Maratou *et al.* [24] ont

confirmé l'existence d'une relation entre les trisomies 21 de première division méiotique et la taille des blocs d'ADN alphas centromériques des chromosomes 21. Toutes ces altérations des mécanismes de ségrégation méiotique pourraient être mieux tolérées dans le sexe féminin que dans le sexe masculin, puisqu'il semble que les points de contrôle de la méiose femelle soient beaucoup plus « souples » que ceux de la méiose mâle où la présence de chromatides libres bloque la progression méiotique [25].

Cette notion de cohésion chromatidienne et son rôle dans le déroulement de la méiose fournissent une explication constructive au phénomène de séparation prématurée des chromatides homologues.

Conclusions

Il n'existe vraisemblablement pas une explication simple et unique à l'effet de l'âge maternel sur la survenue des non-disjonctions chromosomiques. La mise en évidence récente de cette forme particulière d'aneuploïdies par séparation prématurée des chromatides souligne la complexité de cette question. L'effet de l'âge maternel est assurément un phénomène multifactoriel, faisant intervenir aussi bien des facteurs intrinsèques à la mécanique méiotique que des facteurs environnementaux (déséquilibre hormonal, maturation folliculaire,

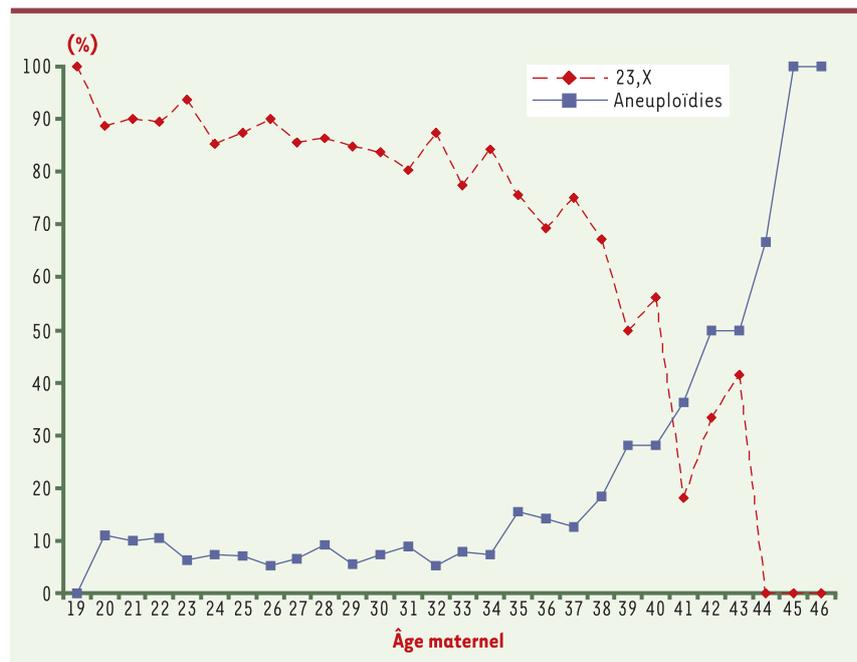


Figure 2. Évolution comparative en fonction de l'âge maternel de la fréquence des caryotypes ovocytaires normaux (23, X) et de la fréquence globale d'aneuploïdies. La corrélation entre l'âge maternel et les erreurs de ségrégation méiotique donne lieu à une augmentation significative du taux d'aneuploïdies à partir de 36 ans.

microcirculation péri-folliculaire...). Quels que soient les mécanismes mis en œuvre, la résultante en est toujours une perte ou un gain de chromosomes à l'issue de la méiose, et de ce fait l'examen cytogénétique des ovocytes reste encore l'approche la plus directe pour identifier ces anomalies. La mise au point de nouvelles techniques de fixation [26] et l'amélioration des protocoles de peintures chromosomiques devraient permettre d'adapter efficacement les outils de cytogénétique moléculaire à ce type particulier de chromosomes. ♦

SUMMARY

Maternal age and chromosomal abnormalities in human oocytes

Maternal ageing is the only etiological factor unequivocally associated with the occurrence of aneuploid conceptuses. Molecular studies of trisomies have demonstrated that the pattern of recombination was an important predisposing factor to meiotic nondisjunction. To complete this data, a large chromosomal study

has been undertaken on 1,397 unfertilised human oocytes recovered from women participating in *in vitro* fertilization programmes. Conventional whole chromosome nondisjunction and premature chromatid separation were the major types of numerical abnormalities observed. A positive relationship was found between maternal age and these two types of nondisjunction, but the most significant correlation was observed with chromatid separation resulting in the presence of free chromatid in metaphase II oocyte. These data revealed that chromatid separation was an essential factor in the age-dependent occurrence of aneuploidy. This finding provided new insights into the mechanism of nondisjunction in female meiosis since disturbance in molecular chromatid cohesion by cohesins might be a causal mechanism predisposing to nondisjunction and involved in the maternal age effect. ♦

RÉFÉRENCES

1. Hassold T, Hunt PA. To err (meiotically) is human: The genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 280-91.
2. Sherman SL, Takaesu N, Freeman SB, et al. Trisomy 21: Association between reduced recombination and nondisjunction. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 608-20.
3. Hassold T, Merrill M, Adkins K, et al. Recombination and maternal age-dependent nondisjunction: Molecular studies of trisomy 16. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 867-74.
4. 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.
5. Hawley RS, Frazier JA, Rasooly R. Separation anxiety: The etiology of nondisjunction in flies and people. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1521-8.
6. Koehler KE, Hawley RS, Sherman S, Hassold T. Recombination and nondisjunction in humans and flies. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1495-504.

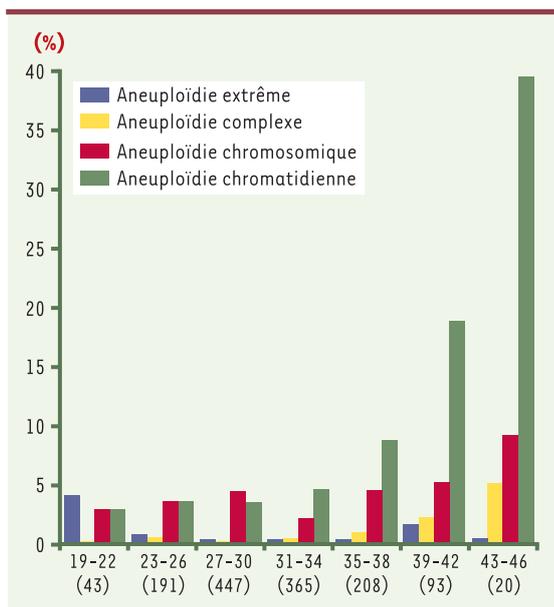


Figure 3. Distribution des différents types d'aneuploïdies en fonction de l'âge maternel. Des tranches d'âges de quatre ans ont été définies de manière à regrouper un nombre suffisant de caryotypes. Le nombre d'ovocytes caryotypés dans chaque tranche d'âges figure entre parenthèses. Trois types d'aneuploïdies (séparation chromatidienne, non-disjonction chromosomique et aneuploïdie complexe) présentent une corrélation positive avec l'âge maternel. Toutefois, ces données indiquent clairement que la corrélation avec l'âge la plus significative concerne les d'anomalies par séparation chromatidienne qui augmente fortement à partir de 35 ans.

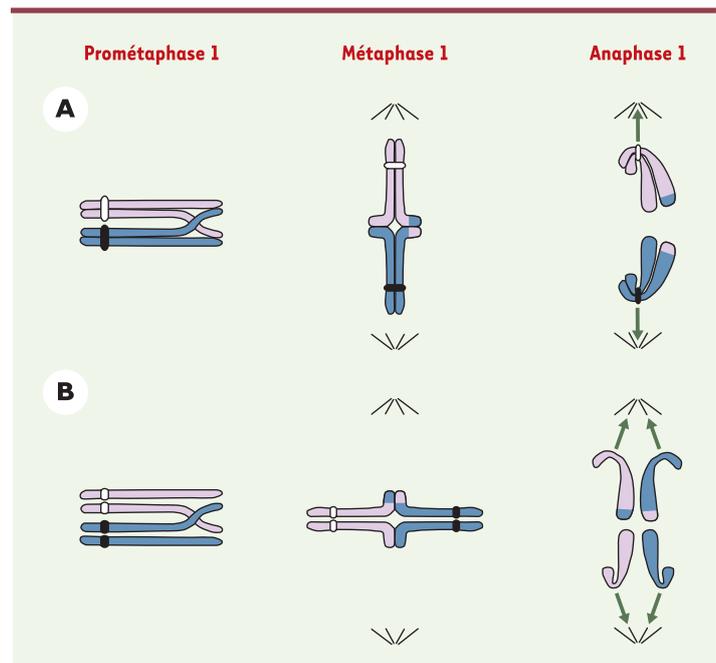


Figure 4. Configuration d'une paire de chromosomes acrocentriques présentant un échange chiasmatique en prometaphase I, métaphase I et anaphase I. A. En présence de cohésine, l'orientation stable du bivalent sur le fuseau assure une séparation parfaite des deux chromosomes. B. En l'absence de cohésion, le bivalent adopte une configuration linéaire, plus stable mais favorisant la ségrégation indépendante et prématurée de chaque chromatide (d'après [20]).

7. Ross LO, Maxfield R, Dawson D. Exchanges are not equally able to enhance meiotic chromosome segregation in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4979-83.
8. Jacobs PA. The chromosome complement of human gametes. *Oxf Rev Reprod Biol* 1992; 14: 47-72.
9. Angell RR. Predivision in human oocytes at meiosis I: A mechanism for trisomy formation in man. *Hum Genet* 1991; 86: 383-7.
10. Angell R. First-meiotic-division nondisjunction in human oocytes. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 23-32.
11. Mahmood R, Brierley CH, Faed MJ, et al. Mechanisms of maternal aneuploidy: FISH analysis of oocytes and polar bodies in patients undergoing assisted conception. *Hum Genet* 2000; 106: 620-6.
12. Sandalinas M, Marquez C, Munne S. Spectral karyotyping of fresh, non-inseminated oocytes. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 580-5.
13. Martini E, Flaherty SP, Swann NJ, et al. FISH analysis of six chromosomes in unfertilized human oocytes after polar body removal. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 276-83.
14. Wall MB, Marks K, Smith TA, et al. Cytogenetic and fluorescent *in situ* hybridization chromosomal studies on *in vitro* fertilized and intracytoplasmic sperm injected failed-fertilized human oocytes. *Hum Reprod* 1996; 11: 2230-8.
15. Pellestor F, Andréo B, Arnal F, et al. Maternal aging and chromosomal abnormalities: New data drawn from *in vitro* unfertilized human oocytes. *Hum Genet* 2003; 112: 195-203.
16. Dailey T, Dale B, Cohen J, Munne S. Association between nondisjunction and maternal age in meiosis-II human oocytes. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 176-84.
17. Nasmyth K, Peters JM, Uhlmann F. Splitting the chromosome: cutting the ties that bind sister chromatids. *Science* 2000; 288: 1379-85.
18. Parisi S, McKay MJ, Molnar M, et al. Rec8p, a meiotic recombination and sister chromatid cohesion phosphoprotein of the Rad21p family conserved from fission yeast to humans. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 3515-28.
19. Bickel S, Orr-Weaver TL, Balicky E. The sister-chromatid cohesion protein ORD is required for chiasma maintenance in *Drosophila* oocytes. *Current Biology* 2002; 12: 925-9.
20. Wolstenholme J, Angell RR. Maternal age and trisomy - a unifying mechanism of formation. *Chromosoma* 2000; 109: 435-8.
21. Steuerwald N, Cohen J, Herrera RJ, et al. Association between spindle assembly checkpoint expression and maternal age in human oocytes. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 49-55.
22. Pellestor F, Andréo B, Arnal F, et al. Mechanisms of non-disjunction in human female meiosis: the co-existence of two modes of malsegregation evidenced by the karyotyping of 1397 *in vitro* unfertilized oocytes. *Hum Reprod* 2002; 17: 2134-45.
23. Lo AW, Liao GC, Rocchi M, Choo KH. Extreme reduction of chromosome-specific alpha-satellite array is unusually common in human chromosome 21. *Genome Res* 1999; 9: 895-908.
24. Maratou K, Siddique Y, Kessling AM, Davies GE. Variation in alphoid DNA size and trisomy 21: a possible cause of nondisjunction. *Hum Genet* 2000; 106: 525-30.
25. LeMaire-Adkins R, Radke K, Hunt PA. Lack of checkpoint control at the metaphase/anaphase transition: a mechanism of meiotic nondisjunction in mammalian females. *J Cell Biol* 1997; 139: 1611-9.
26. Hodges CA, Hunt PA. Simultaneous analysis of chromosomes and chromosome-associated proteins in mammalian oocytes and embryos. *Chromosoma* 2002; 11: 165-9.

TIRÉS À PART

F. Pellestor