



(Figure 3). Ces gènes sont exprimés asymétriquement dans la frontière des folioles où ils répriment localement la croissance cellulaire. Ils induisent également la croissance des folioles par un mécanisme qui n'est pas intrinsèque à la cellule et sont impliqués dans une boucle de régulation positive des gènes méristématiques *KNOX* et *LFY*. Après avoir identifié ces acteurs conservés de la découpe et de la croissance des folioles, il reste à présent à découvrir les éléments régulant leur activité et ainsi à mieux comprendre l'origine des nombreuses formes de feuilles observées dans la nature. ♦

A conserved mechanism at the base of leaf dissection

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

Thomas Blein, 28 ans

Le représentant de la lignée verte a déjà vu beaucoup de choses avant qu'un stage d'été à l'INRA ne le fasse rencontrer les plantes, ayant d'abord parcouru la classe préparatoire de vétérinaire, la faculté et l'INA P-G devenue depuis AgroParisTech qu'il termine avec un Master en biologie végétale. Son travail de thèse qui explore le contrôle des gènes du méristème et de la découpe des feuilles sous la direction de Patrick Laufs à l'Institut Jean-Pierre Bourgin à l'INRA de Versailles. Maintenant en stage postdoctoral dans le département de botanique de l'institut de biologie II de l'université Albert-Ludwig à Fribourg (Allemagne) auprès du professeur Klaus Palme, il reste fidèle à la végétation en s'intéressant désormais à la croissance des racines.

RÉFÉRENCES

1. Barkoulas M, Galinha C, Grigg SP, Tsiantis M. From genes to shape: regulatory interactions in leaf development. *Curr Opin Plant Biol* 2007 ; 10 : 660-6.
2. Champagne C, Sinha N. Compound leaves : equal to the sum of their parts? *Development* 2004 ; 131 : 4401-12.
3. Aida M, Ishida T, Fukaki H, et al. Genes involved in organ separation in Arabidopsis: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. *Plant Cell* 1997 ; 9 : 841-57.
4. Aida M, Tasaka, M. Genetic control of shoot organ boundaries. *Curr Opin Plant Biol* 2006 ; 9 : 72-7.
5. Souer E, van Houwelingen A, Kloos D, et al. The no apical meristem gene of Petunia is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell* 1996 ; 85 : 159-70.
6. Nikovics K, Blein T, Peaucelle A, et al. The balance between the *mir164a* and *cuc2* genes controls leaf margin serration in arabidopsis. *Plant Cell* 2006 ; 18 : 2929-45.
7. Vroemen CW, Mordhorst AP, Albrecht C, et al. The CUP-SHAPED COTYLEDON3 gene is required for boundary and shoot meristem formation in Arabidopsis. *Plant Cell* 2003 ; 15 : 1563-77.
8. Blein T, Pulido A, Viallette-Guiraud A, et al. A conserved molecular framework for compound leaf development. *Science* 2008 ; 322 : 1835-9.

ACADÉMIE DES SCIENCES

Des progéniteurs transplantés peuvent générer des cellules souches germinales

Vilma Barroca, Bruno Lassalle, Isabelle Allemand, Lydia Riou, Pierre Fouchet

Laboratoire gamétogenèse, apoptose et génotoxicité, Inserm U967, Institut de radiobiologie cellulaire et moléculaire, direction des sciences du vivant, CEA, 92265 Fontenay-aux-Roses, France.
vilma.barroca@cea.fr
pierre.fouchet@cea.fr



► La spermatogenèse est l'ensemble des divisions et différenciations cellulaires conduisant, à partir des cellules souches germinales (CSG), à la formation des spermatozoïdes dans le testicule adulte. La préservation d'un stock de cellules souches fonctionnelles est indispensable pour le maintien de l'homéostasie et de la fonction tissulaire, mais également pour la régénération du tissu après une lésion. Ces CSG se multiplient soit pour s'autorenouveler soit pour entrer dans le processus de différenciation et donner naissance à des progéniteurs, qui seront à l'origine de la production des cellules spécialisées. Le processus d'engagement d'une

cellule souche dans le processus de différenciation est considéré comme irréversible. Ainsi, ces progéniteurs perdent la capacité de régénérer le tissu à long terme. Cependant des études récentes notamment dans le modèle du tissu germinal chez la drosophile, soulignent la capacité qu'ont des progéniteurs déjà engagés à se reprogrammer et à acquérir à nouveau le potentiel de régénération à long terme des cellules souches [1, 2]. Deux mécanismes pourraient ainsi coexister au sein de certains tissus afin de maintenir le pool de cellules souches : l'autorenouvellement des cellules souches et la reprogrammation des progéniteurs.

Les progéniteurs murins transplantés peuvent régénérer une spermatogenèse à long terme

Dans le testicule murin, les CSG ou spermatogonies A_s (*single*) débutent le processus de différenciation pour donner une première série de progéniteurs, les spermatogonies A_{pr} (*paired*) et A_{al} (*aligned*) dites indifférenciées. Les spermatogonies A_{al} se différencieront en une seconde série de progéniteurs dits différenciés, les spermatogonies A_1 , A_2 , A_3 , A_4 , Int et B dans lesquelles se produira par la suite le processus méiotique (Figure 1). Chez la souris, nous disposons d'un test fonctionnel identifiant les CSG : l'analyse

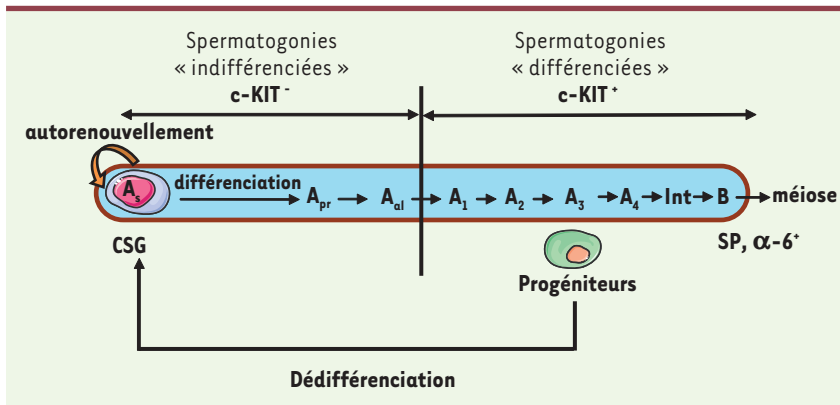


Figure 1. Mise en évidence de la dédifférenciation des progéniteurs spermatogoniaux. Les spermatogonies « différenciées » se dédifférencient en cellules souches germinales (CSG) et régèrent une spermatogenèse à long terme après leur transplantation testiculaire. Cette figure schématise les premières étapes de la spermatogenèse. L'expression des marqueurs utilisés pour la caractérisation des progéniteurs transplantés est indiquée : l'intégrine α -6 ($\alpha 6$), le récepteur à activité tyrosine kinase c-KIT et la *side population* (SP). Le phénotype *side population* est basé sur l'efflux du fluorochrome Hoechst 33342 hors des cellules par le transporteur ABCG2 (transporteurs à *ATP binding cassette*).

du potentiel de régénération tissulaire à long terme après la transplantation de ces cellules dans des testicules de souris stériles.

En tirant parti de ce test fonctionnel, notre équipe a récemment mis en évidence la capacité de progéniteurs germinaux à régénérer une spermatogenèse à long terme après transplantation [3]. Nous avons purifié la population de spermatogonies différenciées sur l'expression de trois caractéristiques : l'expression du récepteur à activité tyrosine kinase c-KIT et de l'intégrine α -6 et l'efflux du colorant vital Hoechst 33342 définissant une population appelée *side population* (SP). Les spermatogonies différenciées SP/ α -6⁺/c-KIT⁺ transplantées régèrent une spermatogenèse normale, et leur capacité de régénération est cinq fois supérieure à celle de la fraction totale non purifiée. Cette spermatogenèse normale issue des cellules transplantées persiste jusqu'à un an après transplantation. Cette population de progéniteurs présente donc un potentiel de régénération à long terme, dont l'efficacité reste toutefois inférieure à celle de la fraction contenant les CSG.

Les progéniteurs se dédifférencient *in vivo* en cellules souches et cette reprogrammation est possible *in vitro*

Nous avons étudié les spermatogonies dérivées des progéniteurs transplantés dans les testicules receveurs. L'analyse de l'expression de marqueurs des CSG couplée à des expériences de transplantation secondaire a montré que des spermatogonies dérivées des progéniteurs transplantés acquéraient un phénotype de CSG. Les spermatogonies différenciées présentent donc la capacité de se dédifférencier en CSG après transplantation. Le microenvironnement tissulaire ou niche, qui joue un rôle crucial dans le destin des CSG, peut également être impliqué dans la régulation de la plasticité cellulaire. Nous avons ainsi observé que les spermatogonies différenciées pouvaient également être reprogrammées en cellules souches *in vitro*, en présence des facteurs de croissance GDNF (*glial cell line-derived neurotrophic factor*) et FGF2 (*fibroblast growth factor*), tous deux produits par la niche testiculaire.

La reprogrammation des progéniteurs : quelles perspectives ?

Les cellules germinales présentent une grande plasticité. Outre la dédifféren-

ciation des progéniteurs germinaux en CSG [3, 4], les cellules souches germinales sont en effet capables *in vitro* de générer des cellules souches pluripotentes, donc en amont dans l'ontogénie [5, 6]. Cette plasticité spontanée des CSG et de leurs progéniteurs semble donc les distinguer des cellules souches et progéniteurs somatiques adultes. Toutefois la reprogrammation de progéniteurs somatiques en cellules souches pluripotentes, les iPS (*induced pluripotent stem cells*) est également induite par l'expression forcée d'une combinaison de facteurs de transcription [7, 8]. Le rôle de ces facteurs dans la reprogrammation des progéniteurs germinaux reste à étudier. De plus, il est intéressant de constater que les progéniteurs hématopoïétiques de souris invalidées simultanément pour les trois gènes suppresseurs de tumeur $p16^{Ink4a}$, $p19^{Arf}$ et $Trp53$ acquièrent la capacité à régénérer à long terme l'hématopoïèse, une propriété caractéristique des cellules souches hématopoïétiques [9]. Certains processus de cancérisation pourraient ainsi résulter d'une activation incontrôlée de ces mécanismes de reprogrammation cellulaire.

Il reste également à déterminer le rôle du processus de reprogrammation des progéniteurs dans le maintien du stock de CSG. Est-il primordial dans la régénération tissulaire après lésion du tissu ? Une étude récente chez la drosophile montre en effet que la dédifférenciation des progéniteurs participe à la régénération des CSG en réponse à une irradiation ou au cours du vieillissement [10]. Les progéniteurs germinaux pourraient ainsi constituer une réserve de « cellules souches potentielles », qui, après leur reprogrammation, permettraient de produire de nouvelles CSG [4]. Cette capacité des progéniteurs à se reprogrammer ouvre de nouvelles perspectives dans les recherches en thérapie cellulaire. ♦

Transplanted progenitors can generate germinal stem cells



Vilma Barroca, 25 ans

L'article présenté résulte d'un travail engagé durant le stage de DEA de Vilma Barroca, qui vient de soutenir brillamment en juillet sa thèse sur l'anémie de Fanconi, les cellules souches germinales et hématopoïétiques de la souris au CEA de Fontenay-aux-Roses où elle faisait partie de l'équipe gamétogénèse, apoptose et génotoxicité sous la direction de Pierre Fouchet. Dans un futur proche, la jeune chercheuse vise un postdoctorat à l'étranger et espère devenir chargée de recherche.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Brawley C, Matunis E. Regeneration of male germline stem cells by spermatogonial dedifferentiation *in vivo*. *Science* 2004 ; 304 : 1331-4.
2. Kai T, Spradling A. Differentiating germ cells can revert into functional stem cells in *Drosophila melanogaster* ovaries. *Nature* 2004 ; 428 : 564-9.
3. Barroca V, Lassalle B, Coureuil M, et al. Mouse differentiating spermatogonia can generate germinal stem cells *in vivo*. *Nature Cell Biol* 2009 ; 11 : 190-6.
4. Nakagawa T, Nabeshima Y, Yoshida S. Functional identification of the actual and potential stem cell compartments in mouse spermatogenesis. *Dev Cell* 2007 ; 12 : 195-206.
5. Guan K, Nayernia K, Maier LS, et al. Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. *Nature* 2006 ; 440 : 1199-203.
6. Conrad S, Renninger M, Hennenlotter J, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult human testis. *Nature* 2008 ; 456 : 344-9.
7. Aoi T, Yae K, Nakagawa M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. *Science* 2008 ; 321 : 699-702.
8. Hanna J, Markoulaki S, Schorderet P, et al. Direct reprogramming of terminally differentiated mature B lymphocytes to pluripotency. *Cell* 2008 ; 133 : 250-64.
9. Akala OO, Park IK, Qian D, et al. Long-term haematopoietic reconstitution by Trp53^{-/-}-p16Ink4a^{-/-}-p19Arf^{-/-} multipotent progenitors. *Nature* 2008 ; 453 : 228-32.
10. Cheng J, Turkel N, Hemati N, et al. Centrosome misorientation reduces stem cell division during ageing. *Nature* 2008 ; 456 : 599-604.

ACADÉMIE DES SCIENCES

Instabilité dynamique de la communication neuronale : nouveau regard sur le trafic des récepteurs de surface

Laurent Groc, Daniel Choquet



UMR5091 CNRS, Université de Bordeaux,
33077 Bordeaux Cedex, France.
laurent.groc@u-bordeaux2.fr

► La recherche des voies et mécanismes par lesquels les neurones communiquent est un enjeu central des neurosciences. En effet, le fonctionnement cérébral repose à la fois sur un transfert rapide et reproductible des informations et sur une capacité de plasticité et d'adaptation. La communication neuronale a principalement lieu au niveau des synapses, où la libération d'un neuromédiateur active des récepteurs situés dans la membrane post-synaptique (neurone receveur). Parce que les capacités d'adaptation de la synapse impliquent entre autres des modifications du nombre de récepteurs post-synaptiques, notre travail de recherche, dont une partie a été présentée le 9 juin 2009 devant l'Académie des Sciences, s'est focalisé sur le trafic dynamique de ces récepteurs membranaires. Pour ce faire, des techniques d'imagerie à haute résolution ont été développées à l'interface physique-biologie en collaboration avec l'équipe de Brahim Lounis du Centre de

physique moléculaire optique et hertzienne (Bordeaux) afin de visualiser le mouvement de molécules individuelles à l'échelle du milliardième de mètre (nanomètre). Appliquée à nos modèles expérimentaux, qu'est-ce que l'étude du trafic des récepteurs de surface nous a appris sur la communication neuronale ?

La dynamique des récepteurs glutamatergiques dans la synapse

Nous avons donc étudié la transmission synaptique excitatrice et, tout particulièrement, celle qui implique le glutamate comme neuromédiateur (80 % des synapses du cerveau). Depuis le début des années 2000, nous avons participé avec d'autres laboratoires (dont celui dirigé par Antoine Triller à l'École normale supérieure de Paris) à la démonstration du fait, jusque là improbable, que les récepteurs sont mobiles à la surface des neurones [1, 2]. En se focalisant sur les récepteurs glutamatergiques, nous avons montré que

ces récepteurs sont très dynamiques à la surface des neurones et que des interactions moléculaires régulent leur trafic. En 2008, dans un article publié dans le journal scientifique *Science* [3], une étape importante dans la compréhension de la fonction du mouvement de ces récepteurs a été franchie. En effet, nous avons démontré que la mobilité des récepteurs glutamatergiques a un impact considérable sur l'adaptation des synapses suite à des stimulations appliquées à des fréquences entre 10 et 200 Hz (fréquences communément rencontrées dans le cerveau). De façon remarquable, la mobilité des récepteurs glutamatergiques dans la synapse est suffisante pour permettre le remplacement en quelques millisecondes de récepteurs exposés au glutamate, et donc désensibilisés, par des récepteurs « naïfs » non exposés. Ce phénomène permet de réduire la dépression synaptique induite par des stimulations répétées et facilite donc l'adaptation des synapses à l'activité