

Information maternelle et développement embryonnaire chez la souris

RÉFÉRENCES

1. Sternlicht AL, Schultz RM. Biochemical studies of mammalian oogenesis : kinetics of accumulation of total and poly(A)-containing RNA during growth of the mouse oocyte. *J Exp Zool* 1981 ; 215 : 191-200.
 2. Bachvarova R, De Leon V. Polyadenylated RNA of mouse ova and loss of maternal RNA in early development. *Dev Biol* 1980 ; 74 : 1-8.
 3. Flach G, Johnson MH, Braude PR, Taylor RAS, Bolton VN. The transition from maternal to embryonic control in the 2-cell mouse embryo. *EMBO J* 1982 ; 1(6) : 681-6.
 4. Clegg KB, Piko L. Poly(A) length, cytoplasmic adenylation and synthesis of poly(A) + RNA in early mouse embryos. *Dev Biol* 1983 ; 95 : 331-41.
 5. Paynton BV, Rempel R, Bachvarova R. Changes in state of adenylation and time course of degradation of maternal mRNAs during oocyte maturation and early embryonic development in the mouse. *Dev Biol* 1988 ; 129 : 304-14.
 6. McGrew LL, Dworkin-Rastl E, Dworkin MB, Richter JD. Poly(A) elongation during *Xenopus* oocyte maturation is required for translational recruitment and is mediated by a short sequence element. *Genes Dev* 1989 ; 3 : 803-15.
 7. Vassalli JD, Huarte J, Belin D, et al. Regulated polyadenylation controls mRNA translation during meiotic maturation of mouse oocytes. *Genes Dev* 1989 ; 3 : 2163-71.
 8. Paules RS, Buccione R, Moschel RC, Vande Woude GF, Eppig JJ. Mouse *Mos* protooncogene product is present and functions during oogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 5395-9.
 9. O'Fefe SJ, Wolfes H, Kiessling AA, Cooper GM. Microinjection of antisense *c-mos* oligonucleotides prevents meiosis II in the maturing mouse egg. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 7038-42.
- Chez la plupart des espèces animales, le début du développement embryonnaire se déroule en absence de transcription zygotique. L'information maternelle stable est stockée dans l'œuf principalement sous forme d'« ARN maternels » transcrits en cours d'ovogenèse et de leurs produits protéiques. Elle joue un rôle essentiel pour le développement, non seulement jusqu'à l'activation transcriptionnelle du génome de l'embryon, mais sans doute aussi au-delà puisque, au moins chez des espèces telles que le nématode ou la drosophile, certains transcrits maternels sont encore fonctionnels bien après cette activation transcriptionnelle (lors de la neurogenèse chez la drosophile, par exemple).
- Chez les mammifères, l'activation transcriptionnelle du génome embryonnaire, même si elle se situe après un intervalle de temps relativement long post-fécondation, n'est séparée de celle-ci que par un nombre très restreint de divisions cellulaires (Tableau I). Le très faible nombre de mutations à effets parentaux connues et la rareté du matériel disponible (350 pg d'ARN total par ovocyte ovulé chez la souris, dont 7 à 35 pg d'ARN polyA+) rendent l'acquisition de connaissances sur les ARN maternels tributaire du développement récent de techniques de grande sensibilité : PCR, hybridation *in situ*, micro-injections d'ARN antisens. Les études actuelles concernant les ARN maternels dans l'embryon de mammifères (de souris essentiellement) portent sur trois points : la quantification et l'identification des ARN présents dans l'œuf, la régulation de leur expression, l'identification des fonctions pour lesquelles ils codent.
- Accumulation des ARN maternels au cours de l'ovogenèse**
- Chez la souris, l'accumulation d'ARN maternels pendant l'ovogenèse* se fait en trois phases au cours de la prophase méiotique*. Au début de la croissance ovocytaire, les ARN contenus dans l'ovocyte ne représentent que 30 % des ARN présents en fin de croissance. Une accumulation rapide d'ARN est enregistrée pendant la première partie de la croissance : 95 % des ARN totaux sont déjà synthétisés, alors que l'ovocyte atteint 65 % de son volume final. Une synthèse beaucoup plus faible d'ARN est ensuite détectée jusqu'à la maturation* méiotique [1]. L'activité transcriptionnelle cesse alors. Elle ne reprendra que dans l'embryon.
- La maturation méiotique déclenche une diminution de la quantité d'ARN maternels qui se poursuit au cours du développement de l'embryon avant son implantation dans la paroi utérine. Le jeune blastocyste contient encore 20 à 30 % des ARN maternels présents dans l'œuf [2]. La mise en route du génome zygotique, détectable par les premières synthèses de protéines sensibles à l' α -amanitine (un inhibiteur de transcription spécifique de l'ARN polymérase II) se situe au début du stade deux cellules [3], malgré une très faible incorporation de ribonucléotides au cours du stade une cellule. L'accumulation d'ARN zygotiques est détectable quantitativement à partir des stades 4-8 cellules.
- Le profil d'accumulation des ARN polyA en cours d'ovogenèse suit celui des ARN totaux (figure 1). Dans l'ovocyte ayant terminé sa croissance, ils représentent environ 19 % des ARN totaux (ce pourcentage est

* GLOSSAIRE *

Méiose : ensemble de deux divisions cellulaires particulières permettant la formation de cellules germinales haploïdes à partir de cellules diploïdes. Au cours d'une première division dite « réductionnelle » (incluant prophase I, métaphase I, anaphase I et télophase I), la cellule initiale comportant $2n$ chromosomes à 2 chromatides donne naissance à deux cellules filles contenant chacune n chromosomes à 2 chromatides. Chacune de ces deux cellules, au cours de la deuxième division dite « équationnelle » (prophase II, métaphase II, anaphase II et télophase II), se divise pour donner deux cellules filles contenant chacune n chromosomes à 1 chromatide.

Ovogenèse : on appelle ovogenèse l'ensemble des phénomènes qui permettent la transformation des cellules souches des gamètes femelles — les ovogonies — en gamètes.

Elle comprend plusieurs phases :

- une phase de multiplication cellulaire qui a lieu lors de la vie embryonnaire et constitue un stock important d'ovogonies ;
- une phase d'accroissement, au cours de laquelle les cellules, ayant entamé la méiose mais restant bloquées en prophase I, accumulent du matériel génétique sous forme d'ARN et de protéines. Des stimulations hormonales provoquent l'entrée en croissance de groupes d'ovocytes. La croissance ne peut être menée à bien qu'après la puberté ;

- une phase de **maturation** : provoquée par la décharge hormonale responsable de l'ovulation. Au cours de cette phase, l'ovocyte poursuit sa méiose jusqu'au stade métaphase II où il subit un nouveau blocage. La pénétration du spermatozoïde lors de la fécondation lèvera ce blocage. Le début de la maturation est repérable morphologiquement par la rupture de la membrane nucléaire de l'ovocyte ou rupture de la vésicule germinale.

Blastoderme : le début du développement chez la drosophile est caractérisé par une succession de 9 divisions nucléaires rapides, sans formation de membranes cellulaires. Les noyaux migrent alors à la périphérie de l'embryon où ils se disposent en une seule couche : c'est le stade **blastoderme syncytial**. Ils subissent 4 divisions supplémentaires, puis les membranes cellulaires se forment entre les noyaux : l'embryon a alors atteint le stade **blastoderme cellulaire**.

beaucoup plus élevé que dans des cellules somatiques adultes où il est d'environ 2 %). La maturation s'accompagne d'une perte importante des ARN polyA qui représentent environ 10 % des ARN maternels totaux après maturation, et tout au long du développement avant implantation. Toutefois, au stade une cellule, la polyadénylation de transcrits cytoplasmiques préalablement non adénylés provoque une augmentation de la quantité d'ARN polyA [4] qui diminue ensuite brutalement au stade deux cellules et suit la même évolution ultérieure que les ARN totaux.

Diversité des transcrits maternels

La variété des facteurs maternels hérités par l'embryon de souris sous forme d'ARN messagers ou de leurs produits de traduction est considérable : protéines du métabolisme général, protéines de structure cytoplasmiques ou nucléaires, facteurs de transcription, facteurs de croissance, proto-oncogènes. Selon les méthodes mises en œuvre pour étudier ces facteurs maternels on peut distinguer :

- des transcrits maternels dont la présence a pu être détectée directement dans l'œuf à une période où il n'y a pas d'activité transcriptionnelle (ovocyte ayant achevé sa croissance, en cours de maturation ou embryon de stade une cellule), mais dont la traduction éventuelle n'est pas documentée ; c'est le cas des facteurs de croissance TGF α (*transforming growth factor* α), PDGF A (*platelet derived growth factor* A), Vg1 (apparenté au TGF β), du transporteur de glucose GLUT 1, des méthallothionéines MTI et MTII ;

- des transcrits maternels, détectés à la fois directement et par leur produit de traduction, au cours des mêmes stades : les histones, les tubulines et l'actine, LDH1 (lactate déshydrogénase), HPRT (hypoxanthine phosphoribosyltransférase), *c-mos*, le facteur de transcription *oct 3*, la protéine de choc thermique 70 kDa, et le tPA (*tissue plasminogen activator*) ;

- des transcrits maternels dont la présence au cours de la même période est mise en évidence seulement par la synthèse de leur produit de traduction : complexe des 35 kDa, *cdc 2*, protéines ribosomiques, laminine,

protéine de choc thermique 89 kDa ; - enfin, des facteurs maternels présents à l'état protéique dans l'œuf, sans que l'on ait à l'heure actuelle d'informations sur la persistance éventuelle de leurs transcrits : les proto-oncogènes *c-myc* et *evi-1*, les facteurs de transcription *oct 5* et HSF (*heat shock factor*), les enzymes GPI (glucose phosphate isomérase), créatine kinase et ADN méthylase.

Régulation post-transcriptionnelle de l'expression des transcrits maternels

Face à l'extrême variété des ARN maternels stockés dans l'ovocyte, se pose la question du mode de régulation — nécessairement post-transcriptionnel — de leur expression. D'autant plus que coexistent, chez la souris comme dans toutes les autres espèces étudiées, des variations quantitatives globales des niveaux de traduction (diminution momentanée des synthèses protéiques lors de la maturation, augmentation de ces synthèses lors de la fécondation) ou des dégradations d'ARN messagers, et des processus de recrutement sélectif de certaines espèces moléculaires assurant leur expression spécifique à un moment donné du développement.

Chez les invertébrés et les amphibiens, les modes de régulation traductionnelle des ARN maternels connus sont très variés : répression de traduction par liaison de protéines spécifiques aux régions non traduites des ARN, compartimentation cellulaire des transcrits, dégradations spécifiques d'ARN, variation de l'état d'adénylation des transcrits. Les processus de localisation de l'information maternelle (création de gradients de concentration notamment) jouent un rôle important dans la régulation de son expression. Ils sont essentiels à la formation des axes antéro-postérieur (drosophile) et dorso-ventral (drosophile, xénope), par exemple.

Chez les mammifères (souris), en revanche, ce mode de régulation n'existe pas, l'information maternelle n'est pas régionalisée : le cytoplasme de l'œuf ne présente pas d'anisotropie. Les études actuelles tendent à corrélérer la traductibilité et la stabilité de chaque transcrit aux variations de sa polyadénylation. Il en résulte que

Tableau I

VITESSE DE DÉVELOPPEMENT POST-FÉCONDATION, STADE DE DÉVELOPPEMENT
ET MOMENT DE MISE EN ACTIVITÉ DU GÉNOME ZYGOTIQUE
CHEZ DIFFÉRENTS ORGANISMES

Organisme	Nombre de divisions cellulaires en absence de transcription	Temps (post-fécondation) d'activation du génome zygotique	Stade d'activation transcriptionnelle du génome zygotique
<i>C. elegans</i> (nématode)	?	2 h 30	Début gastrulation 28 cellules
Drosophile	11, première activation 13, activation majeure	1 h 30 2 h 10	Blastoderme*, puis blastoderme cellulaire* environ 6 000 noyaux
Xénope	12	7 à 8 h	<i>mid-blastula</i> environ 4 000 cellules
Souris	1	17-20 h 25-28 h (activation majeure)	2 cellules 2 cellules
Vache	3-4	environ 46 h	8 à 16 cellules
Brebis	3-4	environ 45 h	8 à 16 cellules
Lapin	4	35 à 38 h post-ovulation	16 cellules
Truie	2-3	72 à 96 h	4 à 8 cellules

* Voir glossaire.

Tableau II

POLYADÉNYLATION, TRADUCTION ET DÉGRADATION DE QUELQUES ARN MESSAGERS MATERNELS
DANS L'OVOCYTE EN MATURATION ET LE JEUNE EMBRYON
(MODIFIÉ D'APRÈS PAYNTON *et al.*, 1988)

ARNm	Maturation		Embryogenèse		
	Ovocyte fin de croissance	Ovocyte ovulé	1 cellule	2 cellules jeune	2 cellules âgé
Actine	Poly A + _____	Poly A - Traduction diminue	Dégradation _____		
HPRT	Poly A + _____	Poly A + +	Traduction augmente	Poly A + + _____	Poly A ?
α -tubuline	Poly A + _____	Poly A - Traduction _____ Dégradation _____			Dégradation
tPA*	Poly A + _____	Poly A + + Traduction augmente puis diminue Dégradation			
c-Mos	Poly A - _____	Poly A + Traduction _____ Dégradation _____			

* Tissue plasminogen activator.

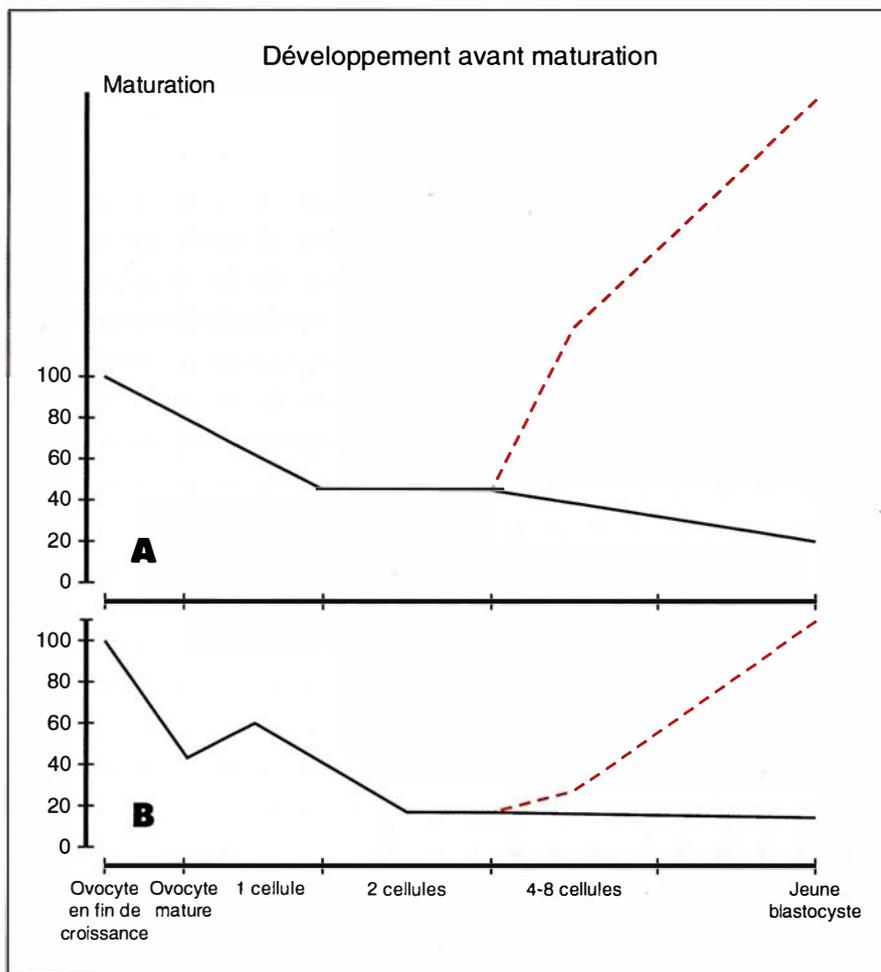


Figure 1. **Évolution des quantités relatives d'ARN totaux (A) et d'ARN polyA+ (B) au cours de la maturation et du développement avant implantation chez la souris.** La valeur 100 représente 0,6 ng pour les ARN totaux et 110 pg pour les ARN poly A+. Les courbes en trait plein rendent compte de l'évolution des populations d'ARN maternels ; les courbes en pointillé des populations d'ARN maternels et zygotiques confondues.

les variations quantitatives globales des ARN polyA+ lors de la maturation et du développement avant implantation masquent des variations de polyadénylation spécifiques de chaque transcrite (Tableau II) [5]. Des messages de l'actine et de la tubuline sont déadénylés, alors que ceux de l'HPRT, du tPA et du proto-oncogène *c-mos* sont, par exemple, adénylés lors de la maturation. Les relations entre adénylation, traduction et stabilité varient selon les transcrits : l'adénylation du transcrite tPA précède immédiatement sa traduction et sa dégradation, alors que l'ARN HPRT adénylé reste stable. Des séquences

spécifiques pourraient être responsables de la régulation de l'expression de certains transcrits à un stade donné. Ainsi, l'ARN HPRT, adénylé lors de la maturation, contient une séquence CPE (*cytoplasmic polyadenylation element*) connue chez le xénope pour préserver certains transcrits d'une déadénylation générale à ce stade [6]. Par ailleurs, la traductibilité de l'ARN tPA dépend de la taille de son extrémité polyA. Or le transcrite contient, dans sa région 3' non traduite, une séquence nécessaire à sa polyadénylation cytoplasmique [7]. Toutefois ces données restent trop fragmentaires, et il est difficile d'en

tirer une vision générale ; la poursuite des comparaisons inter-espèces devrait aider à élucider ces questions.

Fonction des transcrits maternels

Outre les fonctions métaboliques de base qui, de toute évidence, doivent être codées par des ARN maternels en début de développement, des expériences de micro-injections d'ARN anti-sens permettent de cerner des rôles spécifiques joués au cours du développement par certains ARN maternels.

L'ARN maternel *c-mos* disparaît brutalement après polyadénylation lors de la fécondation. La protéine est synthétisée depuis la fin de croissance de l'ovocyte jusqu'à la fécondation. L'injection d'ARN anti-sens dans l'ovocyte immature provoque un blocage des chromosomes en métaphase I [8] ; quand l'injection a lieu plus tard, au cours de la maturation, elle inhibe au contraire le blocage de l'ovocyte en métaphase II [9]. Le proto-oncogène *c-mos* est donc nécessaire au contrôle de la phase M au cours de la méiose. De plus, l'activité kinase de la protéine *c-Mos* maternelle est nécessaire à la rupture des *pronuclei* de l'embryon de stade une cellule, et donc à la première division de cet embryon [10].

L'ARN maternel *oct-3*, codant pour un facteur de transcription de la famille des protéines à domaine POU (*m/s n° 3, vol. 5, p. 172*), est également impliqué dans la première division de l'embryon. L'injection d'anti-sens provoque la perte des ARN *oct-3*, l'inhibition de synthèse d'ADN et un arrêt de développement au stade une cellule. Cet ARN maternel est très probablement impliqué dans la régulation de la réplication plutôt que de la transcription, absente à ce stade [11].

L'ARN maternel codant pour le PDGF A et son produit protéique pourraient être impliqués dans un processus de stimulation autocrine de la division cellulaire au début du développement. En effet, l'injection d'ARN compétiteur codant pour un PDGF A muté dans un des blastomères d'un embryon de stade deux cellules cultivé *in vitro*, inhibe la division ultérieure de ce blastomère [12].

Certains facteurs maternels, protéines

ou ARN, sont susceptibles d'intervenir directement dans l'expression des premiers transcrits zygotiques. L'œuf contient des facteurs de transcription d'origine maternelle : HSF, protéines Oct. Les petits ARN nucléaires — impliqués dans l'épissage des transcrits — UsnRNA (*U small nuclear RNA*) d'origine maternelle persistent dans l'embryon au-delà de la dégradation massive des ARN maternels au stade deux cellules [13]. L'ARN maternel U3 impliqué dans la maturation des ARN ribosomiques est présent jusqu'au stade deux cellules [14]. Toutefois, le rôle joué par les ARN maternels dans l'activation transcriptionnelle du génome zygotique est encore très mal connu chez la souris. Plusieurs phénomènes concomitants de cette activation et communs à toutes les espèces sont observés : influence du rapport nucléocytoplasmique sur l'activation transcriptionnelle, dégradation importante des transcrits maternels, modifications du cycle cellulaire et apparition d'une phase G2 longue. Ces observations pourraient étayer l'hypothèse de la présence d'un facteur maternel répressif dont la titration, par une quantité croissante d'ADN, permettrait l'activation transcriptionnelle.

Le rôle de l'information maternelle chez les mammifères reste encore peu connu. Les comparaisons interspécifiques avec des mammifères dont le génome est activé plus tard commencent à apporter des informations intéressantes : les facteurs essentiels aux premières divisions sont susceptibles d'être exprimés sous forme maternelle chez ces espèces alors qu'ils peuvent être zygotiques chez la souris.

Par ailleurs, deux questions sont encore inexplorées : les ARN maternels encore présents au stade blastocyste jouent-ils un rôle dans le développement ultérieur ? Existe-t-il, comme cela apparaît être le cas chez les invertébrés, une information paternelle (ARN ou protéine) apportée lors de la fécondation et nécessaire au développement, bien que quantitativement moins importante que l'information maternelle ? ■

RÉFÉRENCES

10. Zhao X, Singh B, Arlinghaus RB. Inhibition of c-mos protein kinase blocks mouse zygotes at the pronuclei stage. *Oncogene* 1991 ; 6 : 1423-6.
11. Rosner MH, De Santo RJ, Arnheiter H, Staudt LM. Oct-3 is a maternal factor required for the first mouse embryonic division. *Cell* 1991 ; 64 : 1103-10.
12. Palmieri SL, Biggers JD, Mercola M. Expression of PDGF A chain and PDGF α receptor during mouse embryogenesis suggests possible role in cell cycle control. Résumé présenté au « Symposium on preimplantation embryo development ». Newton : Massachusetts, août 1991.
13. Dean WL, Seufert AC, Schultz GA, *et al.* The small nuclear RNAs for pre-mRNA splicing are coordinately regulated during oocyte maturation and early embryogenesis in the mouse. *Development* 1989 ; 106 : 325-34.
14. Prather R, Simerly C, Shatten G, *et al.* U3 snRNPs and nucleolar development during oocyte maturation, fertilization and early embryogenesis in the mouse : U3 snRNA and snRNPs are not regulated coordinate with other snRNAs and snRNPs. *Dev Biol* 1990 ; 138 : 247-55.

Véronique Richoux-Duranton

Unité de biologie du développement, Inra, bâtiment des biotechnologies, 78350 Jouy-en-Josas, France.

AVIS AUX AUTEURS DE TRAVAUX IMPORTANTS

m/s propose aux auteurs de travaux importants, publiés dans des revues d'audience internationale et de premier niveau, de présenter leurs résultats sous forme de *brève*, de *nouvelle*, voire de *mini-synthèse*, au mieux publiés dans *médecine/sciences* parallèlement à l'article princeps.

LA RÉDACTION

Les manuscrits doivent être adressés à :
médecine/sciences, 6, rue Blanche,
92120 Montrouge, France.
Tél. : (1) 47.35.85.52
Fax : 46.57.10.09