

la sensibilité des techniques d'imagerie, permettront de continuer à développer de nouveaux rapporteurs. En outre, les outils de détection et de suivi des cellules, ainsi que l'analyse des oscillations permettront de développer le même type d'approche chez d'autres vertébrés. ♦

A technical breakthrough for understanding segmentation clock dynamics and synchrony

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Pourquié O. Vertebrate segmentation: from cyclic gene networks to scoliosis. *Cell* 2011 ; 145 : 650–63.
2. Soroldoni D, Oates AC. Live transgenic reporters of the vertebrate embryo's segmentation clock. *Curr Opin Genet Dev* 2011 ; 21 : 600–5.
3. Masamizu Y, Ohtsuka T, Takashima Y, et al. Real-time imaging of the somite segmentation clock: revelation of unstable oscillators in the individual presomitic mesoderm cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 1313–8.
4. Aulehla A, Wiegand W, Baubet V, et al. A beta-catenin gradient links the clock and wavefront systems in mouse embryo segmentation. *Nat Cell Biol* 2008 ; 10 : 186–93.
5. Takashima Y, Ohtsuka T, Gonzalez A, et al. Intrinsic delay is essential for oscillatory expression in the segmentation clock. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 3300–5.
6. Delaune EA, François P, Shih NP, Amacher SL. Single-cell-resolution imaging of the impact of Notch signaling and mitosis on segmentation clock dynamics. *Dev Cell* 2012 ; 23 : 995–1005.
7. Gajewski M, Sieger D, Alt B, et al. Anterior and posterior waves of cyclic *her1* gene expression are differentially regulated in the presomitic mesoderm of zebrafish. *Development* 2003 ; 130 : 4269–78.
8. Jiang YJ, Aerne BL, Smithers L, et al. Notch signalling and the synchronization of the somite segmentation clock. *Nature* 2000 ; 408 : 475–9.
9. Horikawa K, Ishimatsu K, Yoshimoto E, et al. Noise-resistant and synchronized oscillation of the segmentation clock. *Nature* 2006 ; 441 : 719–23.

NOUVELLE

Évolution et cancer

Expansion des familles de gènes dangereux par duplication du génome

Séverine Affeldt^{1*}, Param Priya Singh^{1*}, Ilaria Cascone², Rasim Selimoglu², Jacques Camonis², Hervé Isambert¹

¹CNRS-UPMC UMR168, ²Inserm U830, Institut Curie, Centre de recherche, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris, France.

*Contribution égale des auteurs
herve.isambert@curie.fr

► Si la conservation des gènes essentiels à la vie des organismes se conçoit intuitivement bien, à l'inverse, l'étonnante expansion des familles de gènes à l'origine des cancers ou d'autres maladies génétiques chez les vertébrés pose question. Alors qu'on pourrait supposer que la multiplication de ces gènes « dangereux » confère malgré tout un avantage sélectif, nos travaux récents [1] suggèrent en fait que ces gènes ont été multipliés et conservés en raison de leur dangerosité à la suite de deux accidents génétiques majeurs correspondant à des duplications globales de génome.

De l'expansion des familles de gènes dangereux chez les vertébrés

Pour comprendre l'origine de l'expansion des familles de gènes dangereux chez les vertébrés, il faut remonter à l'ancêtre commun de tous les vertébrés, il y a quelque 500 millions d'années. Par un mécanisme presque toujours légal,

mais qui a joué un rôle essentiel au cours de l'évolution, notre lignée encore invertébrée a entièrement dupliqué son génome deux fois de suite et a survécu à ces deux accidents génétiques majeurs. Ces deux duplications globales du génome ont conduit à l'émergence et à la complexification des vertébrés dont certains gènes ont conservés jusqu'à quatre copies. Au total, un quart à un tiers de nos gènes serait directement issu de ces deux duplications de génome à l'origine des vertébrés [2]. Ces gènes sont appelés gènes ohnologues en l'honneur du généticien Susumu Ohno qui fut le premier à avancer l'hypothèse de ces duplications globales du génome chez les vertébrés [3].

Après une duplication globale du génome, les organismes perdent généralement près de 80 à 90 % des gènes dupliqués, ce qui entraîne une expansion hétérogène de leurs voies de signalisation (Figure 1) et de leurs réseaux

de gènes [4-6]. Cependant, de façon surprenante, on constate que les copies ohnologues retenues dans le génome humain comportent un nombre élevé de gènes dangereux, c'est-à-dire présentant une forte susceptibilité aux mutations délétères dominantes comme les oncogènes notamment. Certains de ces gènes dangereux ont même gardé leurs quatre copies depuis l'origine des vertébrés ! C'est le cas par exemple des gènes *RalGEF* (*Ral guanine-nucleotide exchange factor*) (Figure 1) qui activent les voies Ras-Ral impliquées dans la migration et la prolifération cellulaires dans des tumeurs [7]. De même, le gène *Ras*, qu'on retrouve en un seul exemplaire chez les invertébrés comme la drosophile (Figure 1), a conservé chez la plupart des vertébrés trois ohnologues proto-oncogéniques (*KRas*, *HRas* et *NRas*) (Figure 1) qui présentent des mutations constitutivement actives dans plus de 25 % des cas de cancer chez l'homme.

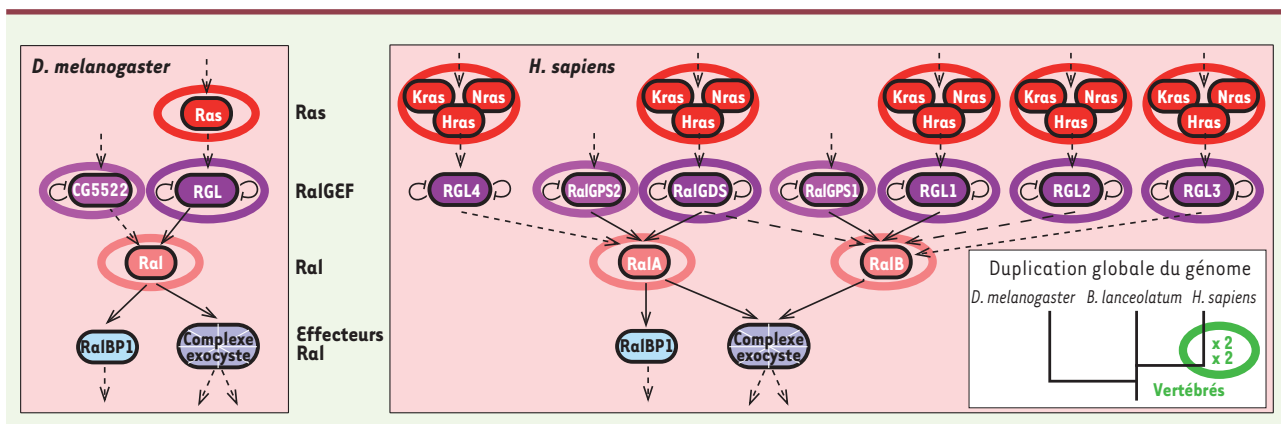


Figure 1. Expansion des voies de signalisation Ras-Ral. Voies de signalisation Ras-Ral chez la drosophile (A) et chez l'homme (B). Après les deux duplications globales de génomes chez l'ancêtre des vertébrés, chez l'homme, le gène *RGL* a conservé ses quatre copies ohnologues (*RalGDS*, *RGL1*, *RGL2*, *RGL3*), le gène *Ras* a conservé trois copies ohnologues (*Kras*, *Hras*, *Nras*) et le gène *Ral* a conservé deux copies ohnologues (*RalA*, *RalB*) [7]. Cet exemple illustre la nécessaire réorganisation des voies de signalisation et des réseaux d'interactions protéine-protéine après un événement de duplication globale du génome, et l'élimination par divergence d'une partie des gènes dupliqués [4-6].

Au delà de ces exemples, nous avons effectué une étude d'exploration de données à grande échelle sur l'ensemble des gènes humains, à partir des bases de données accessibles en ligne (comme COSMIC [8], CancerGenes [9]) et de publications. Ceci nous a permis de mettre en évidence une forte association entre la dangerosité des ohnologues et leur rétention dans le génome humain. Dans ces analyses, nous avons considéré différentes classes de gènes susceptibles d'être affectés par des mutations délétères. Ces classes comprennent notamment des gènes dont l'implication dans les cancers est connue et des gènes dont les mutations induisent typiquement des phénotypes délétères dominants, par exemple *via* une perte d'interaction d'auto-inhibition entraînant un gain de fonction permanent pour le gène mutant.

Les résultats obtenus [1] indiquent que les 8 095 gènes impliqués dans des cancers ou dans des maladies génétiques comportent significativement plus d'ohnologues que l'ensemble des 20 506 gènes codant pour les protéines humaines, soit 48 % contre 35 % (48 % ; 3 844/8 095 ; $p = 1,3 \times 10^{-129}$, test χ^2). En outre, ce biais de rétention augmente fortement dans le cas des oncogènes (61 % ; 493/813 ; $p = 1,4 \times 10^{-54}$,

test χ^2) ou des gènes dont la protéine est auto-inhibée (76 % ; 350/461 ; $p = 2,7 \times 10^{-77}$, test χ^2). De même, lorsque l'on considère des classes de gènes combinant plusieurs facteurs de dangerosité, telles que la classe des oncogènes dont la protéine est auto-inhibée, ces biais de rétention dépassent les 90 % (91 % ; 104/114 ; $p = 6,9 \times 10^{-37}$, test χ^2). À l'inverse, nous avons montré que les gènes associés à des mutations délétères récessives chez l'homme, ainsi que la plupart des gènes essentiels connus chez la souris, n'ont pas conservé un excès d'ohnologues. Il apparaît donc que la rétention des gènes ohnologues serait directement liée à leur susceptibilité aux mutations délétères dominantes et non pas à leur nature fondamentale pour l'organisme. Nous avons en fait démontré [1], au moyen d'analyses statistiques d'inférences bayésiennes, telles que l'analyse de Médiation [10], que la dangerosité est bien la cause principale de la rétention des gènes ohnologues chez l'homme. En particulier, les équilibres entre les niveaux d'expression génétique, fréquemment proposés comme la principale cause des biais de rétention des ohnologues, semblent en fait résulter indirectement des effets des mutations délétères dominantes [1].

Le mécanisme de conservation des ohnologues

Pourquoi les multiples copies ohnologues de ces gènes dangereux, à l'origine de nombreux cancers et maladies génétiques sévères, n'ont-elles pas été éliminées chez les vertébrés ? Pour le comprendre, il faut avoir en tête deux points essentiels (Figure 2) : (1) la duplication globale du génome, lorsqu'elle n'est pas létale, implique nécessairement l'apparition d'une nouvelle espèce composée d'individus possédant tous initialement leurs gènes en double ; et (2) l'inégalité des gènes face aux mutations. Alors que la plupart des gènes tendent à perdre leur fonction par mutation, les gènes dangereux se caractérisent par le fait que leurs mutations entraînent fréquemment une suractivation, c'est-à-dire un gain de fonction, plutôt qu'une perte de fonction. En général, la perte de fonction d'un ohnologue ne pose pas de problème tant qu'il reste une copie fonctionnelle de ce gène, ce qui conduit à l'élimination progressive d'une des copies de la plupart des ohnologues non dangereux. En revanche, la survenue de mutations conduisant à des gains de fonction ou, plus généralement, à des phénotypes dominants délétères qui caractérisent les ohnologues dangereux, va entraîner des pathologies du développement ou

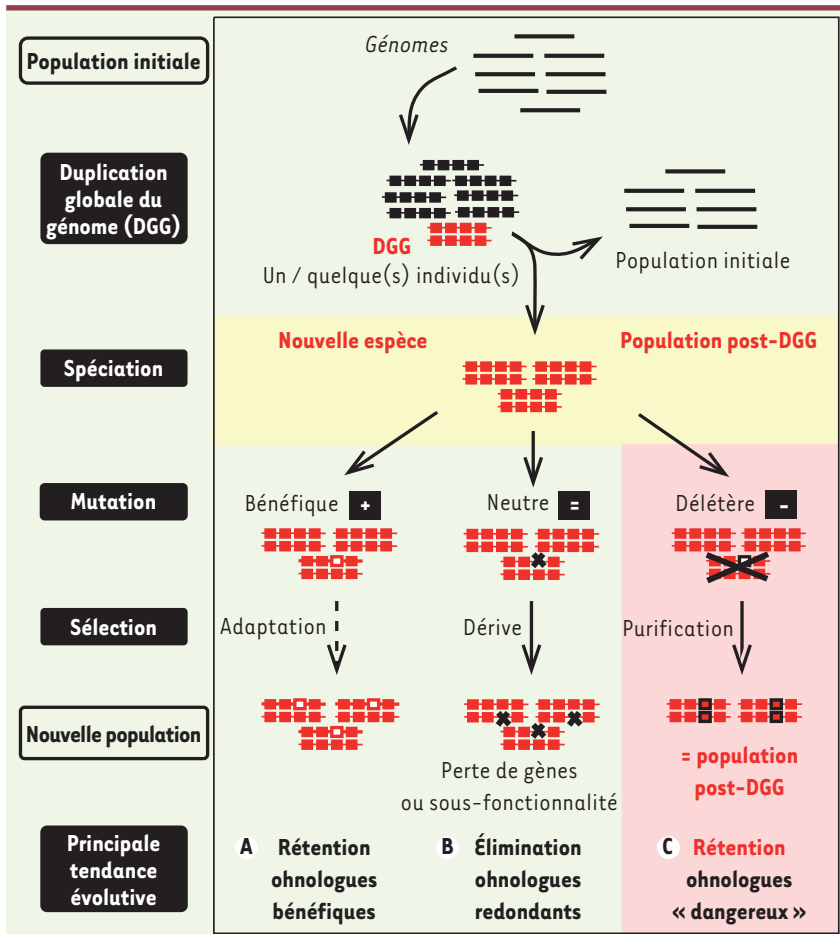


Figure 2. Évolution des gènes dupliqués après duplication globale du génome. A-C. Les lignes horizontales représentent le génome de différents individus. Les carrés symbolisent les gènes dupliqués (rouges) ou non dupliqués (noirs). Les croix noires représentent la perte d'un seul gène (petites croix) ou l'élimination d'un individu (grande croix), tandis que les carrés avec bordures indiquent les copies mutées. Les scénarios d'évolution sont décrits comme il se doit au niveau d'une population d'individus. Lorsqu'elle n'est pas létale, une duplication globale de génome chez un ou plusieurs individus de la population initiale (deux lignes horizontales rouges pour un individu avec duplication complète) implique nécessairement l'émergence d'une nouvelle espèce dont tous les gènes ont été dupliqués. La sélection de purification favorise alors indirectement la conservation des ohnologues dangereux non mutés dans le génome des individus qui survivent. Adapté de [1].

des tumeurs. Celles-ci pénalisent les organismes atteints et, plus ou moins directement, leur descendance qui finira par s'interrompre. Pour autant, les gènes dangereux impliqués ne sont pas éliminés mais au contraire conservés dans la population, puisqu'ils sont encore présents sous une forme non délétère dans le reste de la population issue de la duplication du génome (Figure 2). Ce processus évolutif par élimination de mutants (sélection de purification) se

distingue du concept d'avantage sélectif généralement associé à l'évolution (sélection naturelle ou adaptative). La multiplication des gènes dangereux chez les vertébrés est donc liée à ce phénomène spécifique et très rare de duplication globale du génome qui existe en fait dans la plupart des branches eucaryotes. Sa compréhension doit se faire au niveau de la génétique des populations au sein des nouvelles espèces issues d'une duplication de génome. Tout

se passe comme si les individus de ces populations n'avaient pas pu se débarrasser de nombreux gènes dangereux redondants, directement fixés par spéciation dans leur génome dupliqué et non pas fixés progressivement grâce à un avantage sélectif comme pour la plupart des gènes dupliqués individuellement. Ensuite, les gènes ohnologues conservés se différencient et deviennent souvent des acteurs majeurs du développement, de la signalisation et de la régulation cellulaires. Par exemple, les cadhérines, sorte de colle qui lie les cellules entre elles, ont conservé de multiples ohnologues exprimés dans différents tissus, comme la E-cadhérine qui lie les cellules épithéliales entre elles, ou la N-cadhérine exprimée dans le tube neural et les neurones. Mais les mutations des cadhérines qui entraînent la décohésion des cellules entre elles sont aussi impliquées dans la migration des cellules tumorales et leur dissémination vers d'autres organes.

Conclusions

Ces accidents génétiques majeurs de doublement du génome survenus il y a 500 millions d'années dans l'évolution des vertébrés ont donc permis l'émergence d'organismes plus complexes, mais aussi la multiplication des gènes dangereux chez les vertébrés. Ces résultats éclairent d'un point de vue évolutif nouveau l'expansion des familles de gènes fréquemment impliquées dans des maladies génétiques et de nombreux cancers. ♦

Evolution and cancer: expansion of dangerous gene repertoire by whole genome duplications

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Singh PP, Affeldt S, Cascone I, et al. On the expansion of dangerous gene repertoires by whole-genome duplications in early vertebrates. *Cell Rep* 2012 ; 2 : 1387-98.
2. Makino T, McLysaght A. Ohnologs in the human genome are dosage balanced and frequently associated with disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 9270-74.



3. Ohno S. *Evolution by gene duplication*. New York : Springer-Verlag, 1970.
4. Evlampiev K, Isambert H. Modeling protein network evolution under genome duplication and domain shuffling. *BMC Syst Biol* 2007 ; 1 : 49.
5. Evlampiev K, Isambert H. Conservation and topology of protein interaction networks under duplication-divergence evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 9863-8.
6. Stein RR, Isambert H. Logistic map analysis of biomolecular network evolution. *Phys Rev E* 2011 ; 84 : 051904.
7. Cascone I, Selimoglu R, Ozdemir C, et al. Distinct roles of RalA and RalB in the progression of cytokinesis are supported by distinct RalGEFs. *EMBO J* 2008 ; 27 : 2375-87.
8. Forbes SA, Bindal N, Bamford S, et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the catalogue of somatic mutations in cancer. *Nucleic Acids Res* 2011 ; 39 : D945-D950.
9. Higgins ME, Claremont M, Major JE, et al. CancerGenes: a gene selection resource for cancer genome projects. *Nucleic Acids Res* 2007 ; 35 : D721-D726.
10. Pearl J. *Causality: models, reasoning and inference*. New York : Cambridge University Press, 2009.

NOUVELLE

Aldéhydes et anémie de Fanconi

L'ennemi de l'intérieur

Frédéric P.M. Langevin, Juan I. Garaycochea,
Gerry P. Crossan, Ketan J. Patel

Medical Research Council, Laboratory of Molecular Biology, Francis Crick avenue, Cambridge Biomedical Campus, Cambridge, CB2 0QH, Royaume-Uni.
lf95@mrc-lmb.cam.ac.uk
kjp@mrc-lmb.cam.ac.uk

► La survie d'un organisme multicellulaire est étroitement liée au maintien de l'homéostasie dans l'ensemble des tissus constituant cet organisme. Cette capacité à maintenir cet équilibre vital est assurée par des populations de cellules souches, *via* trois caractéristiques principales : (1) la possibilité de se diviser et de renouveler ce compartiment en générant de nouvelles cellules souches ; (2) l'absence de fonctions tissulaires spécifiques ; et (3) la capacité de se différencier en cellules spécialisées. La moelle osseuse, où résident les cellules souches hématopoïétiques (CSH) responsables de la production des cellules du sang, constitue un tissu modèle pour l'étude des cellules souches somatiques. En effet, l'identification de multiples marqueurs de surface et le développement d'anticorps dirigés contre ces marqueurs et utilisables en cytométrie de flux (FACS, *fluorescent activated cell sorter*), permettent de discriminer et d'isoler les divers précurseurs des cellules sanguines.

Les cellules souches sont sensibles, comme toute cellule, aux conditions de stress, en particulier aux dommages de l'ADN. Ainsi, au cours du temps, l'accumulation de mutations contribue au déclin des capacités des cellules souches. L'existence de mécanismes de

réparation de l'ADN est donc essentielle au maintien des populations de cellules souches [1]. Une étude récente de notre groupe décrit le rôle d'un système de réparation de l'ADN et la nature génotoxique de métabolites endogènes dans les CSH de souris [2].

L'anémie de Fanconi, une pathologie s'accompagnant d'un défaut de réparation de l'ADN

La thématique de recherche principale de notre équipe concerne l'étude des mécanismes de réparation de l'ADN et, en particulier, celle des gènes impliqués dans l'anémie de Fanconi. Notre approche est essentiellement génétique et se base sur des modèles cellulaires et murins (souris génétiquement modifiées ou *knockout* [KO]). Du nom du pédiatre suisse Guido Fanconi qui décrit cette maladie génétique rare au début du XX^e siècle [3], l'anémie de Fanconi se manifeste dès l'enfance par des malformations squelettiques, une forte prédisposition à certains types de cancers (en particulier des leucémies myéloïdes) et une aplasie médullaire progressive. Les cellules de ces patients sont très sensibles à des drogues anticancéreuses, telles que la cisplatine ou la mitomycine C. Cette sensibilité constitue la base du test de diagnostic dit de « cassures

chromosomiques » [4]. En effet, en liant de façon covalente deux bases opposées (interbrins d'ADN) ou adjacentes (intrabrin d'ADN), ces drogues induisent des lésions (ponts inter- ou intrabrin, *DNA crosslinks*) de l'ADN qui bloquent la réplication et la transcription. Ces ponts interbrins ont pour conséquence une augmentation des cassures chromosomiques. Dans les cellules de patients atteints d'anémie de Fanconi, ceci est dû à un défaut de réparation de l'ADN. À ce jour, une quinzaine de gènes ont été identifiés, codant pour des protéines impliquées dans cette voie de réparation des lésions pontantes de l'ADN.

Les aldéhydes, source de dommages à l'ADN

Les cassures chromosomiques se manifestent spontanément dans les cellules de patients, en dehors de la présence de drogues comme la cisplatine, ce qui suggère l'existence d'agents génotoxiques présents de façon naturelle dans les cellules de ces patients. Notre groupe a confirmé cette hypothèse en montrant en 2011 que les aldéhydes produits par le métabolisme cellulaire (en particulier l'acétaldéhyde) étaient à l'origine de dommages à l'ADN dans les cellules de patients atteints d'anémie de Fanconi [5]. Des souris double KO pour les