

## Le complexe protéique Elongator

### Un nouvel acteur de la division cellulaire asymétrique

Vicente José Planelles-Herrero, Emmanuel Derivery

Division de biologie cellulaire, *MRC laboratory of molecular biology*, Cambridge, Royaume-Uni.  
[derivery@mrc-lmb.cam.ac.uk](mailto:derivery@mrc-lmb.cam.ac.uk)



➤ Lors du développement des organismes multicellulaires, de nombreux types cellulaires sont obtenus à partir d'une unique cellule œuf originelle. Cette diversité est en partie issue de divisions cellulaires asymétriques, au cours desquelles une cellule mère produit deux cellules filles présentant des tailles ou des destins cellulaires différents. La compréhension des mécanismes moléculaires orchestrant la division asymétrique a considérablement progressé, notamment grâce à l'étude d'organismes modèles, comme la mouche *Drosophila melanogaster*, le poisson *Danio rerio*, ou encore le ver *Caenorhabditis elegans* [1-3].

Pendant le développement de *D. melanogaster*, par exemple, les cellules pré-curseurs des organes sensoriels (*sensory organ precursors*, SOP) se divisent de façon asymétrique pour générer deux cellules différentes, dénommées p11a et p11b. Ces cellules, à leur tour, se divisent asymétriquement pour générer les quatre cellules constituant chacun des organes mécanosensibles, ou « poils », décorant tout le corps de la mouche (Figure 1A). La simplicité et la polyvalence de ce modèle permettent d'étudier la division asymétrique d'un point de vue mécanistique. Par exemple, il a pu être montré que les endosomes possédant à leur surface la protéine Sara (*smad anchor for receptor activation*) sont préférentiellement transmis à la cellule fille p11a lors de la division de la cellule SOP. Puisque ces endosomes

contiennent Notch et son ligand Delta, qui déterminent le destin cellulaire dans ce système, ce transport polarisé contribue à la spécification des cellules filles [1, 4] (Figure 1A). Cette polarisation du transport est orchestrée par l'asymétrie du cytosquelette. En effet, dans la cellule SOP, le fuseau mitotique assemblé lors de la division cellulaire contient, pendant l'anaphase<sup>1</sup>, un plus grand nombre de microtubules du côté de la future cellule p11b, tous orientés vers la future cellule p11a<sup>2</sup>. Cette asymétrie est alors utilisée par le moteur moléculaire kinésine Klp98A pour transporter préférentiellement les endosomes Sara<sup>+</sup> et leur contenu en direction de la future cellule p11a [1].

#### Le complexe protéique Elongator contrôle l'asymétrie du fuseau mitotique

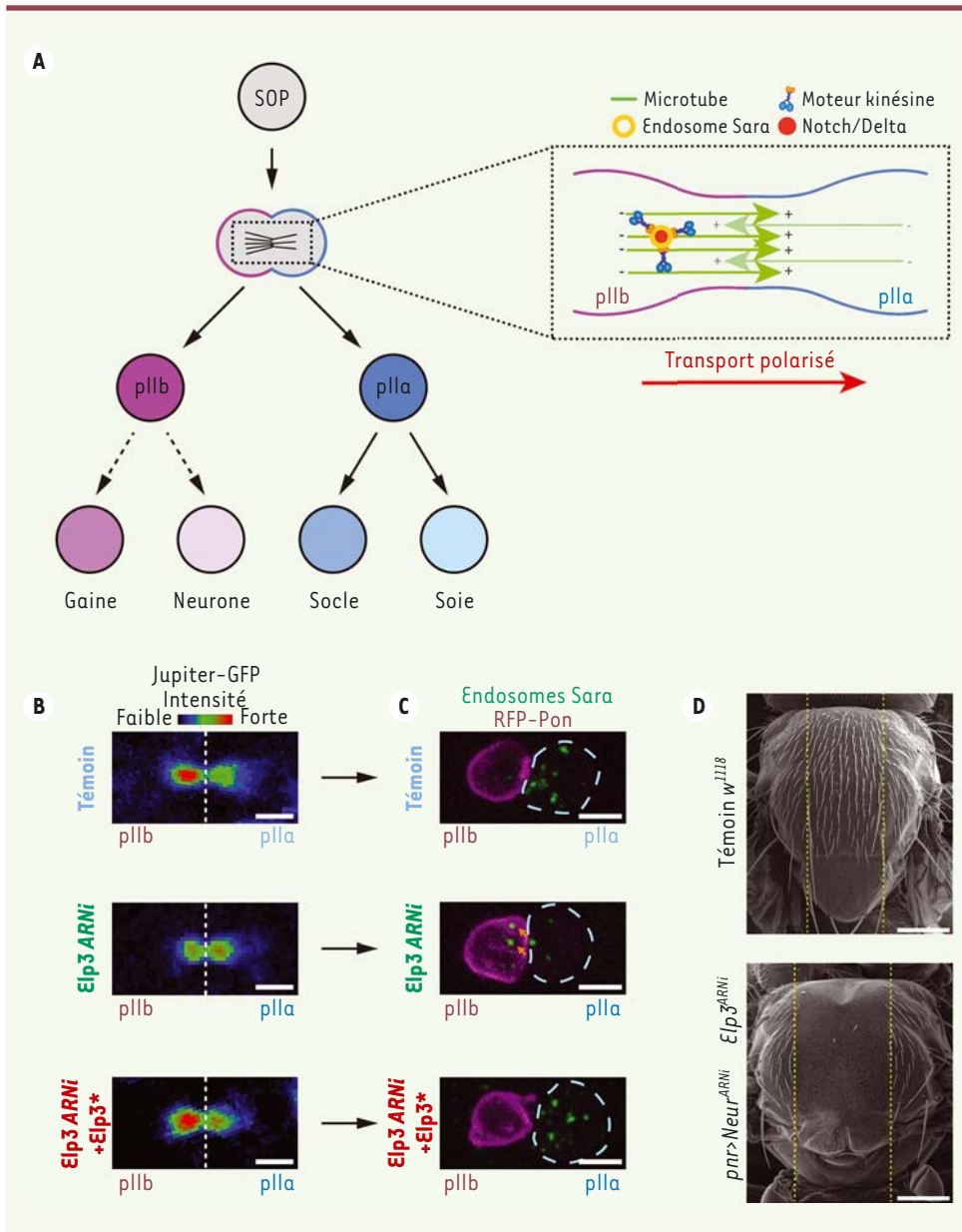
Pour tenter de comprendre comment le fuseau mitotique devient asymétrique, nous avons recherché, dans la littérature scientifique, des facteurs connus pour être impliqués dans le contrôle de la dynamique des microtubules et qui seraient aussi connus pour être plus abondants dans les cellules SOP [5]. Nous avons identifié un seul élément remplissant ces deux conditions : le

complexe protéique Elongator, formé de six sous-unités différentes, nommées Elp1 à Elp6 [6, 7]. Elp3, la seule de ces sous-unités ayant une activité enzymatique (activités acétyl transférase et méthyl transférase), permet au complexe Elongator de modifier les acides ribonucléiques de transfert (ARNt). Ce complexe pourrait également modifier certaines protéines, telles que les histones ou la tubuline [8].

Nous avons montré que si l'on réduit la quantité du complexe Elongator en traitant les cellules SOP par des ARN interférents (ARNi) ciblant Elp1, Elp2 ou Elp3, ou si l'on supprime complètement Elp3, le fuseau mitotique de ces cellules devient symétrique. La réexpression de la sous-unité manquante rétablit l'asymétrie du fuseau, ce qui confirme la spécificité de l'effet de ce traitement (Figure 1B). Le complexe Elongator est donc nécessaire pour assembler un fuseau mitotique asymétrique : en son absence, la densité de microtubules devient similaire des deux côtés du fuseau. Puisque le trafic des endosomes Sara<sup>+</sup> dépend de l'asymétrie du fuseau mitotique, les deux cellules produites à partir de la cellule SOP en l'absence du complexe Elongator reçoivent la même quantité d'endosomes Sara<sup>+</sup>, et la division de la cellule SOP devient alors symétrique (Figure 1C), ce qui entraîne une anomalie phénotypique chez la mouche adulte car les organes sensoriels ne se développent pas correctement (Figure 1D).

<sup>1</sup> Troisième phase de la mitose (entre la métaphase et la télophase), au cours de laquelle les chromatides sœurs se séparent et migrent vers les deux pôles opposés de la cellule.

<sup>2</sup> Les microtubules sont des polymères formés par l'assemblage d'hétérodimères de tubulines  $\alpha$  et  $\beta$ . La polarité de cet assemblage définit l'orientation de chaque microtubule, symbolisée par une extrémité moins (-) et une extrémité plus (+).



**Figure 1.** Le complexe protéique *Elongator* est nécessaire au développement des organes sensoriels de la mouche. **A.** Lignée simplifiée des cellules précurseurs des organes sensoriels (sensory organ precursor cells, ou cellules SOP). **B.** Le complexe protéique *Elongator* contrôle l'asymétrie du fuseau mitotique de la cellule SOP au cours de sa division. Cette cellule se divise pour générer deux cellules filles, p11a et p11b. Dans des conditions physiologiques (« Témoin »), à la fin de la division, le fuseau mitotique est asymétrique : il y a plus de microtubules du côté de la future cellule p11b que du côté de la cellule p11a. Cette asymétrie est perdue lors du traitement de la cellule SOP par un ARN interférent ciblant la sous-unité Elp3 (Elp3<sup>ARNi</sup>), et elle est rétablie grâce à un variant d'Elp3 résistant au ARNi (Elp3<sup>ARNi</sup> + Elp3\*). Les microtubules sont visualisés et quantifiés grâce à la fluorescence du marqueur Jupiter-GFP (green fluorescent protein). **C.** Le complexe *Elongator* contrôle la répartition des endosomes possédant à leur surface la protéine Sara entre les deux cellules filles, p11a et p11b. Des anticorps fluorescents contre Delta et mRFP-

Pon (fusion entre la protéine Pon, qui marque spécifiquement la membrane de la cellule p11b, et la protéine à fluorescence rouge RFP) sont utilisés comme marqueurs des endosomes contenant Sara et du cortex de la cellule p11b, respectivement. Lors du traitement des cellules SOP par Elp3<sup>ARNi</sup>, les endosomes sont anormalement répartis de manière symétrique entre les cellules p11a et p11b (flèches orange). **D.** Développement anormal des organes sensoriels (« poils ») en l'absence du complexe *Elongator*. Images du thorax d'une mouche adulte (vue antérieure) par microscopie électronique à balayage. Barres d'échelle : 2 µm (B), 5 µm (C), et 200 µm (D).

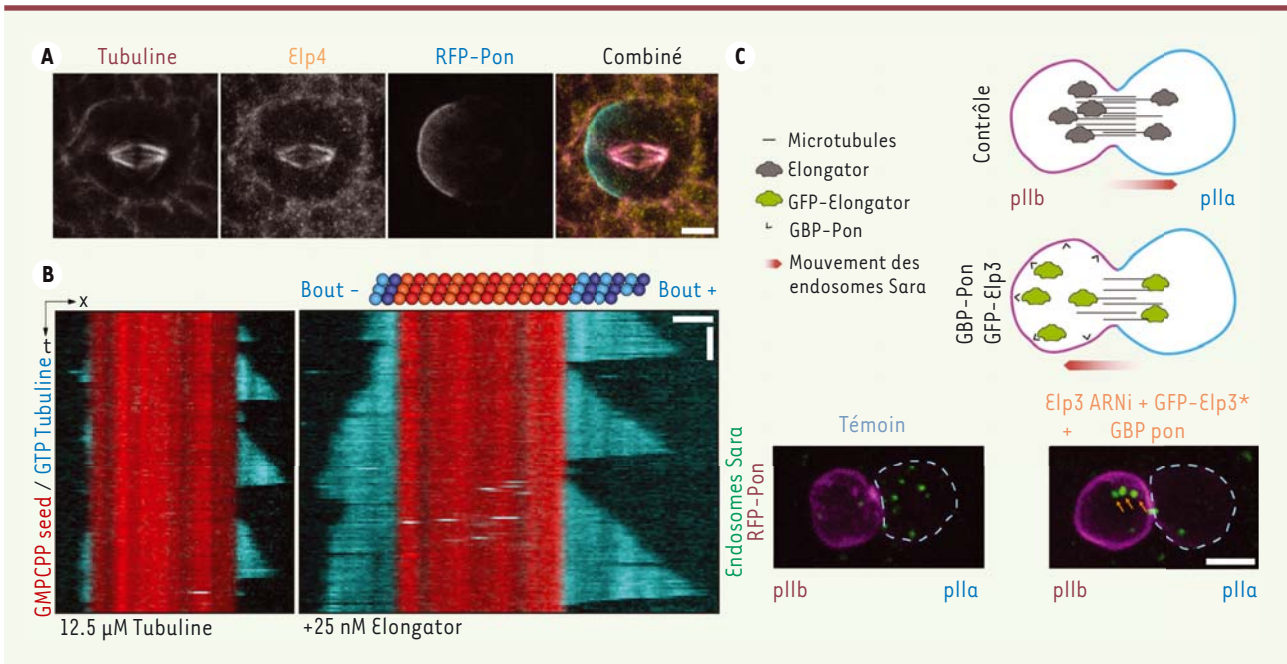
### Le complexe *Elongator* stabilise les microtubules

Afin d'élucider le mécanisme moléculaire par lequel le complexe *Elongator* contrôle la brisure de symétrie du cytosquelette, nous avons étudié la distribution de ce complexe protéique dans les cellules SOP au cours de leur division : en utilisant des anticorps fluorescents

dirigés contre Elp2 ou Elp4, nous avons montré qu'il est situé sur le fuseau mitotique (Figure 2A). Par des expériences de coprécipitation, nous avons ensuite montré qu'il pouvait se lier aux microtubules [9].

Les microtubules ont une structure cylindrique creuse et polarisée. Ils sont formés par la polymérisation d'hétéro-

dimères constitués de tubuline α et de tubuline β. L'acétylation de la tubuline α pourrait changer les propriétés des microtubules contenant cette tubuline modifiée [10]. Puisqu'il a été proposé que le complexe *Elongator* pouvait catalyser cette modification de la tubuline α [8], nous avons testé la validité de cette hypothèse dans des cellules SOP



**Figure 2. Le complexe Elongator interagit avec les microtubules du fuseau mitotique de la cellule SOP et les stabilise. A. Localisation, par immunofluorescence, de la tubuline, de Elp4 et de RFP-Pon dans une cellule SOP en cours de division. B. Le complexe Elongator stabilise les microtubules *in vitro*.** Dans cette expérience, les microtubules croissent par polymérisation à partir de courts microtubules stabilisés grâce à l'utilisation d'un analogue du GTP (GMPCPP) empêchant leur dépolymérisation (« GMPCPP seeds »). La dynamique de la polymérisation est analysée à l'aide de kymographes représentant leur longueur (axe horizontal) en fonction du temps (axe vertical). En présence d'une quantité physiologique de tubuline et du complexe Elongator, les microtubules s'accroissent plus rapidement et pendant longtemps. **C. Délocalisation expérimentale du complexe Elongator.** Dans les conditions physiologiques, le complexe Elongator est plus abondant du côté du fuseau mitotique situé vers la future cellule p11b. Lors de l'expression expérimentale des protéines de fusion GBP (GFP-binding peptide)-Pon et GFP (green fluorescent protein)-Elp3, le complexe Elongator est capturé près de la membrane plasmique de la future cellule p11b, ce qui inverse la quantité relative de ce complexe présente de chaque côté du fuseau mitotique : il y a alors davantage de complexe Elongator du côté de la future cellule p11a. Puisque ce complexe stabilise les microtubules, il en résulte une plus forte densité de microtubules du côté de la cellule p11a, et la majorité des endosomes Sara<sup>+</sup> sont alors anormalement transportés vers la cellule p11b. Barres d'échelle : 5 μm (A), 2 μm/2 minutes (B), 5 μm (C).

préalablement privées de ce complexe. La quantité relative inchangée de tubuline  $\alpha$  acétylée par rapport à la tubuline totale dans ces cellules nous a permis de conclure que le complexe Elongator n'intervient pas dans l'acétylation de la tubuline  $\alpha$  des cellules SOP, ce que nous avons confirmé en mutant deux résidus tyrosine situés dans le site catalytique de la sous-unité Elp3 (mutant Elp3 YY531AA). En effet, puisque Elp3 est la sous-unité responsable de l'activité enzymatique du complexe Elongator, la mutation rend ce complexe incapable de modifier des protéines ou des ARNt [9], ce que nous avons aussi pu confirmer expérimentalement. Cette forme mutée du complexe Elongator n'a pas d'effet

non plus sur la division asymétrique des cellules SOP [9], ce qui indique que l'activité enzymatique de ce complexe n'est pas impliquée dans la brisure de symétrie de leur fuseau mitotique. Nous avons ensuite recherché un effet direct du complexe Elongator sur la dynamique de polymérisation et dépolymérisation des microtubules par des expériences permettant de reconstituer cette dynamique *in vitro*, en présence de tubuline et du complexe Elongator purifiés. Nous avons ainsi pu montrer que ce complexe stabilise les microtubules auxquels il se lie : il augmente la vitesse de polymérisation des microtubules à leurs deux extrémités (+ et -), ainsi que leur taille et leur durée de vie

moyenne (Figure 2B). Sans surprise, le complexe Elongator contenant la mutation Elp3 YY531AA, c'est-à-dire sans activité enzymatique, a la même activité stabilisatrice des microtubules.

### Le complexe Elongator agit sur les microtubules du fuseau mitotique de manière asymétrique

*In vivo*, le complexe Elongator semble stabiliser les microtubules préférentiellement au pôle p11b du fuseau mitotique des cellules SOP en anaphase : en effet, en l'absence du complexe Elongator, le fuseau perd son asymétrie par défaut de microtubules du côté de la future cellule p11b, c'est-à-dire du côté où le complexe est physiologiquement le



plus abondant [9]. Afin de vérifier la validité de cette hypothèse, nous avons modifié expérimentalement la localisation du complexe Elongator dans les cellules SOP grâce à l'utilisation de « nano-anticorps »<sup>3</sup> qui, en capturant ce complexe à la membrane plasmique de manière asymétrique, ont permis d'appauvrir spécifiquement le côté p11b du fuseau mitotique. L'enrichissement relatif en complexe Elongator du côté p11a du fuseau mitotique dans cette expérience a entraîné une inversion de l'asymétrie du fuseau [9], et par conséquent, une transmission préférentielle anormale des endosomes Sara<sup>+</sup> à la cellule p11b (Figure 2C).

Ce travail de recherche a donc permis de découvrir l'action du complexe protéique Elongator sur le fuseau mitotique de la cellule SOP en cours de division. La cellule recrute d'abord une plus grande quantité du complexe Elongator du côté du fuseau

mitotique correspondant à la future cellule fille p11b. Puisque ce complexe se lie aux microtubules et les stabilise, il en résulte une plus grande densité de microtubules de ce côté du fuseau, brisant de ce fait sa symétrie. Ensuite, les moteurs moléculaires à la surface des endosomes Sara<sup>+</sup>, qui contiennent les facteurs de destin cellulaire, utilisent l'asymétrie du fuseau pour transporter ces endosomes préférentiellement vers la future cellule p11a. Ainsi, les deux cellules filles générées à partir de la cellule SOP ont des contenus moléculaires différents à l'issue de sa division, ce qui contribue à leurs destins cellulaires différents, et permet ainsi le développement normal des organes sensoriels de la mouche [9]. De plus, nous avons montré le rôle du complexe protéique Elongator dans le contrôle de la dynamique des microtubules. Or ce complexe participe également au contrôle de la traduction des protéines par son activité de modification des ARNt [8], ce qui ouvre la possibilité d'un couplage local avec la dynamique du cytosquelette dans des cellules polarisées telles que les neurones, où la traduction est contrôlée de façon différentielle dans le corps cellulaire et dans les prolongements neuritiques. ♦

### The Elongator complex : A new actor in asymmetric cell division

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Derivery E, Seum C, Daeden A, et al. Polarized endosome dynamics by spindle asymmetry during asymmetric cell division. *Nature* 2015 ; 528 : 280-5.
2. Kressmann S, Campos C, Castanon I, et al. Directional Notch trafficking in Sara endosomes during asymmetric cell division in the spinal cord. *Nat Cell Biol* 2015 ; 17 : 333-9.
3. Gönczy P. Mechanisms of asymmetric cell division : Flies and worms pave the way. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008 ; 9 : 355-66.
4. Coumilleau F, Fürthauer M, Knoblich JA, et al. Directional Delta and Notch trafficking in Sara endosomes during asymmetric cell division. *Nature* 2009 ; 458 : 1051-5.
5. Buffin E, Gho M. Laser microdissection of sensory organ precursor cells of *Drosophila microchaetes*. *PLoS One* 2010 ; 5 : e9285.
6. Krogan NJ, Greenblatt JF. Characterization of a six-subunit holo-elongator complex required for the regulated expression of a group of genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 2001 ; 21 : 8203-12.
7. Hawkes NA, Otero G, Sebastiaan Winkler G, et al. Purification and characterization of the human elongator complex. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 3047-52.
8. Gaik M, Kojic M, Wainwright BJ, et al. Elongator and the role of its subcomplexes in human diseases. *EMBO Mol Med* 2022 ; e16418.
9. Planelles-Herrero VJ, Bittleston A, Seum C, et al. Elongator stabilizes microtubules to control central spindle asymmetry and polarized trafficking of cell fate determinants. *Nat Cell Biol* 2022 ; 24 : 1606-16.
10. Janke C, Magiera MM. The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020 ; 21 : 307-26.

<sup>3</sup> Les « nano-anticorps » (en anglais, « nanobodies ») désignent le domaine variable des anticorps composés d'une seule chaîne lourde et dépourvus de chaîne légère, ce qui implique que le fragment Fab (antigen-binding fragment) de ces anticorps est réduit au seul domaine variable de l'unique chaîne lourde (contenant le domaine variable VHH fusionné à une région charnière elle-même fusionnée à des domaines CH2-CH3). Ces petits anticorps, naturellement présents chez les poissons cartilagineux et les camélidés, ont la capacité d'atteindre des épitopes « cryptiques » souvent inaccessibles aux anticorps, environ dix fois plus volumineux, des autres mammifères (qui sont composés de deux chaînes lourdes et deux chaînes légères).



**m/s**  
médecine/sciences

**Avec m/s, vivez en direct  
les progrès et débats  
de la biologie et de la médecine**

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S  
CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur  
**www.medecinesciences.org**