

## NOUVELLE

### Disperser puis regrouper les chromosomes : l'inversion fonctionnelle de Ki67 au cours de la mitose

Olivier Albagli<sup>1</sup>, Hélène Pelczar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Développement, adaptation et vieillissement (Dev2A), Sorbonne université, CNRS UMR8263, Inserm U1345, Institut de Biologie Paris-Seine, Paris, France

<sup>2</sup>UFR 927 Sciences de la vie, Sorbonne université, Paris, France  
[olivier.albagli-curiel@inserm.fr](mailto:olivier.albagli-curiel@inserm.fr)  
[helene.pelczar@sorbonne-universite.fr](mailto:helene.pelczar@sorbonne-universite.fr)

► Entre le début et la fin de la mitose, la répartition spatiale des chromosomes dans la cellule apparaît très différente. Au début de la mitose, en prométaphase, les chromosomes sont relativement individualisés et mobiles, avant leur accrochage au fuseau mitotique [1-3] (→). **(→ Voir *m/s* n° 10, 2019, page 732**

En fin d'anaphase, ils sont au contraire étroitement regroupés [4]. Depuis 2016, on sait que le marqueur de prolifération Ki67 est requis pour la dispersion des chromosomes en prométaphase [1-3]. La même équipe de chercheurs s'est récemment intéressée au regroupement des chromosomes en fin de mitose [4].

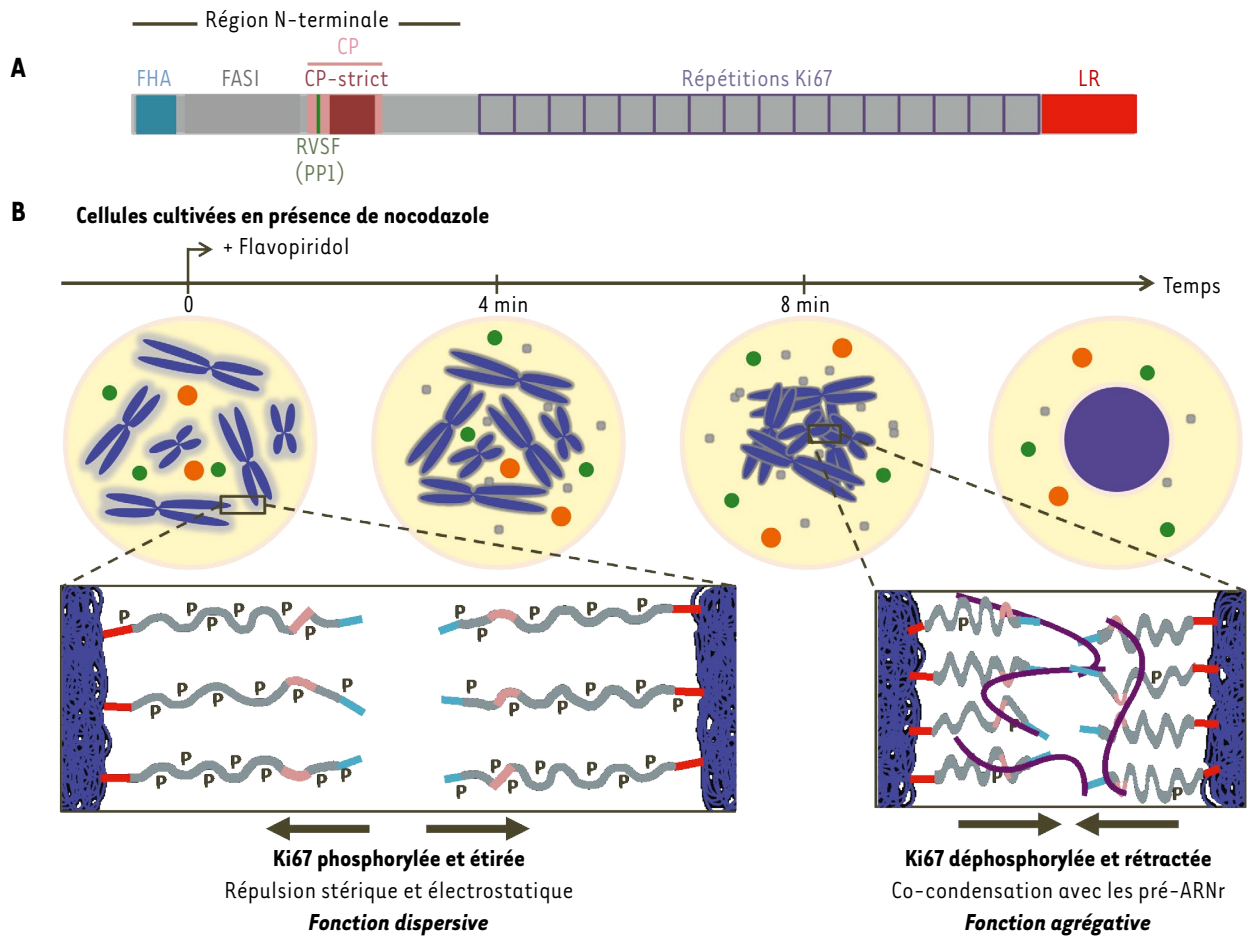
Leurs résultats montrent que le regroupement des chromosomes intervient avant la reformation de l'enveloppe nucléaire à la fin de la mitose<sup>1</sup>, et ne dépend ni du fuseau mitotique<sup>2</sup>, ni des filaments d'actine [4]. Le regroupement des chromosomes permet de chasser hors du futur noyau des gros constituants cytoplasmiques, par exemple des ribo-

somes, qui se sont mélangés aux chromosomes lorsque l'enveloppe nucléaire a disparu (*Figure 1*) [4]. Inversement, les chromosomes mitotiques retiennent dans leur couche externe, la périphérie chromosomique, de nombreux composants nucléolaires, qui seront ainsi équitablement partagés entre les noyaux des cellules filles [4].

Les protéines Ki67 sont un composant essentiel de la périphérie chromosomique [5, 6]. Elles tapissent les chromosomes mitotiques et forment une brosse à « poils » longs et denses. En début de mitose, cette brosse est hérissée et agit comme un surfactant assurant la dispersion des chromosomes [1-4]

<sup>1</sup> Réciproquement, la reformation de l'enveloppe nucléaire ne dépend pas du regroupement des chromosomes : elle n'est que légèrement retardée dans des cellules déficientes pour ce regroupement [4].

<sup>2</sup> Le fuseau mitotique entraîne les chromosomes vers chacun de ses deux pôles lors de l'anaphase, mais il n'est pas requis pour le regroupement décrit ici puisque celui-ci se produit aussi dans des cellules traitées par le nocodazole, qui empêche la formation du fuseau mitotique [4, 7].



**Figure 1. La protéine Ki67 et ses rôles dans la mitose.** **A.** Domaines de la protéine Ki67 humaine. L'isoforme longue (3256 résidus) est représentée. FHA : *forkhead-associated domain* ; FASI : *fragment absent in the short isoform* (codé par l'exon 7) ; CP : *charged patch* (chevauche le domaine conservé CD précédemment défini [3, 6, 12]) ; CP-strict : partie du domaine CP la plus riche en résidus basiques (arginine et lysine) ; RVSF : motif impliqué dans le recrutement de la phosphoprotéine phosphatase PPI et présent dans le domaine CP (hors CP-strict) ; Succession de 16 répétitions imparfaites d'un domaine d'environ 120 résidus (le nombre de répétitions varie selon les espèces) [5, 6] ; LR : domaine riche en résidus leucine (L) et arginine (R), permettant l'ancrage de Ki67 aux chromosomes mitotiques [1-7]. Notons que la portion N-terminale du domaine CP recrutant PPI est structurellement et fonctionnellement conservée dans la protéine Repo-Man (*recruits PPI onto mitotic chromatin at anaphase*) [5, 11]. La redondance entre ces deux protéines pour le recrutement de PPI (isoforme  $\gamma$ ) sur les chromosomes en anaphase, avec une certaine prédominance de Repo-Man [11], pourrait en partie expliquer pourquoi la sortie de mitose n'est pas perturbée par l'expression d'une forme mutante de Ki67 (dans le motif RVSF) incapable de recruter PPI [4, 7, 11]. **B.** Changement structural et fonctionnel de Ki67 au cours de la mitose. En début de mitose (prométaphase), les chromosomes sont dispersés par les protéines Ki67 phosphorylées (P) et étirées (environ 90 nm) perpendiculairement à la surface des chromosomes (halo gris sur les chromosomes, et couleurs correspondant aux domaines de la Figure 1A sur le grossissement). En fin de mitose, les chromosomes se regroupent par cocondensation des protéines Ki67 rétractées (environ 30 nm), déphosphorylées, et encore plus abondantes à leur surface (halo gris plus étroit et plus foncé), et des pré-ARNr (couleur prune) également présents à leur surface [4, 7]. Ce regroupement intervient juste avant la reformation de l'enveloppe nucléaire, et chasse hors du futur noyau des gros composants cytoplasmiques (ronds orange et verts) présents dans l'espace interchromosomique. En fin de mitose, Ki67 forme également des foyers cytoplasmiques (en gris) qui contiennent aussi des pré-ARNr [7]. Dans le protocole expérimental utilisé, les cellules sont synchronisées par le nocodazole (un poison du fuseau mitotique), puis traitées par un inhibiteur de la kinase CDK1, le flavopiridol, ce qui déclenche une sortie rapide de mitose (sans fuseau mitotique) et permet d'en suivre précisément le déroulement. Ce protocole correspond à la majorité des expériences dans [4, 7], notamment celles visant à étudier le rôle de Ki67 et des pré-ARNr dans le regroupement des chromosomes. Notons que ce regroupement se produit également avec d'autres protocoles de blocage ou de déclenchement de sortie de mitose, et à la fin d'une mitose normale [4]. Le schéma comporte certaines simplifications. Les modalités du recrutement des pré-ARNr par Ki67 autour des chromosomes mitotiques restent à préciser [7, 8]. Il est possible que Ki67 et d'autres protéines de la périphérie chromosomique (non représentées) forment aussi des ponts entre les chromosomes en fin de mitose, mais insuffisamment pour les regrouper en l'absence des pré-ARNr [7]. En plus du domaine LR, la partie N-terminale de Ki67, vraisemblablement par son domaine CP, pourrait interagir avec les chromosomes en fin de mitose [7]. Enfin, les pré-ARNr sont présents à la surface des chromosomes dès la prometaphase, mais leur quantité augmente ensuite (au moins lors d'une mitose normale) [7, 8]. En dehors de la mitose, Ki67 est principalement localisée dans et juste autour des nucléoles [1-3, 5-7, 11, 12].

(Figure 1). Cela laissait penser que le regroupement des chromosomes en fin de mitose pourrait résulter d'une diminution de la quantité de Ki67 sur les chromosomes. Or, Ki67 est au contraire encore plus abondante à la surface des chromosomes à la fin de la mitose qu'au début [4, 7]. Plus surprenant encore, les auteurs montrent, à l'aide d'un modèle de sortie de mitose déclenchée sur des cellules synchronisées en prométaphase, que Ki67 est requise pour le regroupement des chromosomes [4-7] (Figure 1). Par conséquent, au cours de la mitose, l'activité de Ki67 change : d'abord répulsive (fonction dispersive), maintenant les chromosomes à distance les uns des autres, elle devient ensuite attractive (fonction agrégative), nécessaire à leur regroupement. Comment la protéine Ki67 peut-elle remplir ces deux fonctions ? Autour des chromosomes, les protéines Ki67 se rétractent en fin de mitose. Leur mobilité diminue, mais reste néanmoins forte [4, 5, 7]. Simultanément, elles forment des foyers cytoplasmiques qui fusionnent (« coalescent ») entre eux et avec le pool de Ki67 des chromosomes (Figure 1) [7]. Ces observations suggèrent qu'en fin de mitose, les structures formées par Ki67 (surface des chromosomes et foyers cytoplasmiques) tendent à se rassembler en une phase liquide séparée du cytoplasme, ce qui entraîne le regroupement des chromosomes [7]. Enfin, Ki67 est phosphorylée sur de nombreux résidus au début de la mitose, et déphosphorylée<sup>3</sup> à la fin de la mitose [5-7]. Ce changement joue un rôle clé dans le changement d'activité de la protéine. En effet, un mutant « phosphomimétique » mimant une forme hyperphosphorylée de Ki67<sup>4</sup> perd, au moins en partie, les propriétés de Ki67

en fin de mitose (enrichissement sur les chromosomes, rétraction, formation des foyers cytoplasmiques) et ne regroupe pas les chromosomes<sup>5</sup> [7]. En revanche, ce mutant est capable de les disperser en début de mitose. La fonction dispersive de Ki67 apparaît donc portée par sa forme phosphorylée, et sa fonction agrégative par sa forme déphosphorylée. D'autres mutants montrent que la partie N-terminale de Ki67 (Figure 1A) joue un rôle prépondérant dans sa fonction agrégative [7]. Elle contient un domaine CP (*charged patch*, Figure 1A) particulièrement important : sa délétion, ou la seule élimination de ses nombreux résidus basiques<sup>6</sup>, suffit à empêcher la suraccumulation de la protéine sur les chromosomes en fin de mitose, la formation des foyers et le regroupement des chromosomes [7].

La déphosphorylation et la rétraction de Ki67 diminuent probablement les barrières électrique et stérique impliquées dans sa fonction dispersive [1, 4, 7]. Toutefois, ces changements apparaissent insuffisants pour produire la force attractive nécessaire à sa fonction agrégative : il manque un « liant » entre les structures formées par Ki67 [7]. Les pré-ARN ribosomiques (ARNr) sont nucléolaires pendant l'interphase et relocalisés

à la périphérie chromosomique<sup>7</sup> pendant la mitose [7, 8]. Leur relocalisation est dépendante de Ki67 (la réciproque n'est pas vraie) et comme celle de Ki67, la quantité des pré-ARNr présents à la périphérie chromosomique augmente en anaphase [4, 7, 8]. La transcription de l'ADN en ARNr, mais pas en ARN messagers (ARNm), est nécessaire au regroupement des chromosomes. Les auteurs proposent que les pré-ARNr établissent des ponts entre les structures formées par Ki67 et favorisent ainsi la coalescence de ces structures et leur séparation de phase d'avec le cytoplasme [7] (Figure 1B). Ils suggèrent également que le domaine CP de Ki67 recrute les pré-ARNr à la périphérie chromosomique [7]. Cependant, ces derniers interagissent probablement avec d'autres domaines de Ki67 et avec des protéines nucléolaires présentes à la périphérie chromosomique [5-8]. En résumé, le regroupement des chromosomes à la fin de la mitose semble résulter de la cocondensation de deux molécules qui tapissent leur surface : Ki67 et les pré-ARNr. De nombreux compartiments dépourvus de membrane limitante sont des phases liquides séparées du cytoplasme par cocondensation de protéines et d'ARN [7, 9, 10]. Juste avant la reformation de l'enveloppe nucléaire, ce mécanisme permettrait donc aussi la formation d'un « protonoyau », constitué des chromosomes regroupés et débarrassés de gros composants cytoplasmiques.

Les résultats de ces travaux de recherche montrent par quels mécanismes la même protéine permet de disperser, puis de regrouper les chromosomes mitotiques [1-3, 7]. Ils suggèrent que Ki67 est impliquée dans une séparation de phases liquide-liquide, ce qui conforte

<sup>5</sup> Le regroupement des chromosomes a été testé avec des versions de Ki67 contenant le domaine LR, qui permet la fixation de la protéine aux chromosomes mitotiques, et surexprimées dans des cellules rendues déficientes pour le gène *Ki67*. En revanche, les foyers formés par Ki67 et son enrichissement sur les chromosomes en fin de mitose ont été étudiés avec des versions de Ki67 dépourvues du domaine LR [7]. Notons que les foyers de Ki67 et son enrichissement sur les chromosomes sont aussi constatés à la fin d'une mitose normale et avec des quantités physiologiques de la protéine [4, 7].

<sup>6</sup> Les 186 résidus du domaine CP (*charged patch*) de Ki67 comprennent 21 résidus lysine (K) et 16 résidus arginine (R), chargés positivement. Leur importance pour la fonction agrégative de Ki67 a été montrée soit en les remplaçant par des résidus électriquement neutres (alanine), soit en éliminant la plupart par une délétion de la partie du domaine CP (« CP strict ») la plus riche en résidus R et K [7]. Notons qu'un mutant phosphomimétique « incomplet » de Ki67, conservant 10 résidus S ou T phosphorylables dans le domaine CP (mutant Ki67<sup>129E</sup>), présente une fonction agrégative intermédiaire entre celle du mutant phosphomimétique « complet » correspondant et celle de la protéine Ki67 non mutée. La déphosphorylation du seul domaine CP n'apparaît donc pas suffisante pour la fonction agrégative physiologique de Ki67 [7].

<sup>7</sup> Les pré-ARNr sont issus de clivages du transcrite primaire 47S, synthétisé et maturé dans le nucléole [8]. Lors de la mitose, une fraction majoritaire des pré-ARNr 45S, 32S et 30S est associée aux chromosomes, alors que la majorité des ARNr matures 28S, 18S et 5,8S est au contraire localisée dans le cytoplasme ou le nucléoplasme. Des petits ARN nucléolaires (snoRNA) sont également détectés à la périphérie chromosomique, mais pas les ARNm, ni au moins un ARN long non codant [7, 8].

<sup>3</sup> La phosphorylation de Ki67 implique (au moins) la kinase CDK1, et sa déphosphorylation implique (au moins) la phosphatase PPI [5-7, 11-13].

<sup>4</sup> 139 résidus sérine (S) ou thréonine (T) répartis dans toute la protéine, sauf dans le domaine LR, ont été changés en résidus acides, aspartate (D) ou glutamate (E), pour créer respectivement deux mutants « phosphomimétiques » équivalents (Ki67<sup>139D</sup> et Ki67<sup>139E</sup>). Notons que les résidus D ou E ne sont qu'une approximation de l'effet biochimique des résidus S ou T phosphorylés [7, 13].



une hypothèse formulée à partir de ses caractéristiques structurales et étaye celle d'un rôle analogue dans d'autres compartiments dépourvus de membrane<sup>8</sup> [5-7]. Ils soulèvent aussi de nouvelles questions. Puisque les pré-ARNr sont présents à la surface des chromosomes mitotiques dès la proméphase [7, 8], ont-ils [8] ou non [7] un rôle dans la dispersion des chromosomes en début de mitose ? Le fait que Ki67 soit requise, directement ou non, pour le recrutement de la plupart, sinon toutes les protéines de la périphérie chromosomique [3, 5-8] laisse ouverte la question de leur rôle individuel dans le regroupement des chromosomes<sup>9</sup>. Par ailleurs, d'autres résultats expérimentaux nuancent le lien entre déphosphorylation de Ki67 et fonction agrégative : une forme mutante de Ki67 incapable de recruter la phosphoprotéine phosphatase PP1 n'est pas déphosphorylée normalement en fin de mitose [11], mais conserve néanmoins une certaine capacité de regrouper les chromosomes [4, 7]. De plus, l'effet de la phosphorylation de Ki67 sur sa tendance à former une phase séparée reste débattu [7, 12, 13]. Enfin, le modèle initial était que la dispersion des chromosomes repose sur la richesse de la protéine Ki67 en résidus chargés positivement [1-3]. Or il s'avère que la fonction dispersive de Ki67 implique sa forme phosphorylée, chargée

négativement en dehors du domaine CP, ce qui semble plus cohérent avec son étirement perpendiculairement à la surface des chromosomes [2, 7]. Comment expliquer alors qu'un procédé expérimental destiné à accroître la charge positive des chromosomes, la surexpression de l'histone H2B, restaure en partie la dispersion des chromosomes (mais pas leur regroupement) dans des cellules privées de Ki67 [1, 4] ? Notons d'abord que cet effet n'est constaté qu'en cas de très forte surexpression de cette histone [1], ce qui pourrait certes apporter de nombreuses charges positives, mais pourrait aussi avoir d'autres effets sur les chromosomes. D'ailleurs, il convient de mentionner qu'un court traitement par un inhibiteur d'histone-désacétylases est également capable de « remplacer » Ki67 pour la dispersion des chromosomes en début de mitose [4]. Ce traitement, utilisé par les auteurs pour son effet attendu sur la charge électrique des chromosomes<sup>10</sup> [4], peut induire de nombreux changements de structure et de composition de la chromatine [14] et empêcher la condensation normale des chromosomes mitotiques [15]. Il semble donc qu'en l'absence de Ki67, et par conséquent d'une grande part de la périphérie chromosomique, la dispersion des chromosomes en début de mitose puisse être parfois artificiellement obtenue par une perturbation globale de la charge ou de l'organisation des chromosomes. ♦

### Chromosome dispersion and clustering: the dual function of Ki67 during mitosis

<sup>10</sup> L'inhibition d'histone-désacétylases favorise l'acétylation du groupement amine de la chaîne latérale de résidus lysine, et ainsi la neutralisation de charges positives, dans les histones et d'autres protéines [14].

## LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

1. Cuylen S, Blaukopf C, Politi AZ, et al. Ki-67 acts as a biological surfactant to disperse mitotic chromosomes. *Nature* 2016 ; 535 : 308-12.
2. Brangwynne CP, Marko JF. A sticky problem for chromosomes. *Nature* 2016 ; 535 : 234-5.
3. Albagli O, Pelczar H. Ki67 : un surfactant des chromosomes mitotiques. *Med Sci (Paris)* 2019 ; 10 : 732-5.
4. Cuylen-Hoering S, Petrovic M, Hernandez-Armendariz A, et al. Chromosome clustering by Ki-67 excludes cytoplasm during nuclear assembly. *Nature* 2020 ; 587 : 285-90.
5. Remnant L, Kochanova NY, Reid C. The intrinsically disorderly story of Ki-67. *Open Biol* 2021 ; 11 : 210120.
6. Andrés-Sánchez N, Fisher D, Krasinska L. Physiological functions and roles in cancer of the proliferation marker Ki-67. *J Cell Sci* 2022 ; 135 : jcs258932.
7. Hernandez-Armendariz A, Sorichetti V, Hayashi YA, et al. A liquid-like coat mediates chromosome clustering during mitotic exit. *Mol Cell* 2024 ; 84 : 3254-70.
8. Ma K, Luo M, Xie G, et al. Ribosomal RNA regulates chromosome clustering during mitosis. *Cell Discovery* 2022 ; 8 : 51.
9. Banani SF, Lee HO, Hyman AA, Rosen MK. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017 ; 18 : 285-98.
10. Bergeron-Sandoval LP, Safaee N, Michnick SW. Mechanisms and consequences of macromolecular phase separation. *Cell* 2016 ; 165 : 1067-79.
11. Takagi M, Nishiyama Y, Taguchi A, Imamoto N. Ki67 antigen contributes to the timely accumulation of protein phosphatase 1 on anaphase chromosomes. *J Biol Chem* 2014 ; 289 : 22877-87.
12. Yamazaki H, Takagi M, Kosako H, et al. Cell cycle-specific phase separation regulated by protein charge blockiness. *Nat Cell Biol* 2022 ; 24 : 625-32.
13. Valverde JM, Dubra G, Phillips M, et al. A cyclin-dependent kinase-mediated phosphorylation switch of disordered protein condensation. *Nat Commun* 2023 ; 14 : 6316.
14. Chen Y-JC, Koutelou E, Dent SYR. Now open: evolving insights to the roles of lysine acetylation in chromatin organization and function. *Mol Cell* 2022 ; 82 : 716-27.
15. Cimini D, Mattiuzzo M, Torosantucci L, et al. Histone hyperacetylation in mitosis prevents sister chromatid separation and produces chromosome segregation defects. *Mol Biol Cell* 2003 ; 14 : 3821-33.

<sup>8</sup> On parle maintenant de condensats biomoléculaires, ce qui permet de regrouper de nombreux compartiments dépourvus de membrane sur la base de mécanismes de formation communs, et non plus sur une base morphologique issue de descriptions variables (corps, points, organites, etc) [9, 13].

<sup>9</sup> Le rôle clé de Ki67 pour la dispersion des chromosomes a été montré en testant individuellement, par déplétion, de nombreuses protéines de la périphérie chromosomique [1-3]. Cette démarche expérimentale n'a pas été réalisée pour le regroupement des chromosomes [4].



**Tarifs d'abonnement m/s - 2026**

**Abonnez-vous**

**à médecine/sciences**

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

**Abonnez-vous sur**

**www.medecinesciences.org**

