

23

CLONAGE ET CARACTERISATION DE cDNA DE XENOPE CORRESPONDANT A DES mRNA IMPORTANTS POUR LA REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE.

Paris J., Le Guellec R., Le Guellec K., Couturier A., Osborne H.B. et Philippe M.
Lab. de Biologie et Génétique du Développement, CNRS UA 256, Univ. Rennes 1, 35042 Rennes cédex.

En utilisant l'oeuf de Xénope comme système modèle nous étudions les facteurs protéiques de régulation du cycle cellulaire et le contrôle de leur expression. Le fait qu'il n'y ait pas besoin de transcription pendant les 12 premières cycles cellulaires après la fécondation, mais que par contre il y a synthèse de protéines implique qu'il y a utilisation des mRNA maternels au cours du développement précoce. L'analyse quantitative des protéines synthétisées dans un oeuf non-fécondé et des protéines synthétisées dans un embryon avant la reprise de la transcription montre que des protéines nouvelles apparaissent mais que d'autres ne sont plus synthétisées. Notre hypothèse de travail est que ces changements au niveau traductionnel doivent être le résultat de changements au niveau des RNA maternels présent dans les oeufs.

Une banque de cDNA a été réalisée dans le vecteur gt_{10} à partir des RNA polyadénylés contenus dans l'oeuf non-fécondé. Elle a été hybridée avec des sondes correspondants à des mRNA préparés à partir de l'oeuf non-fécondé d'une part et à partir de l'embryon d'autre part. 11 clones ont été sélectionnés par cette méthode. Deux de ces clones correspondent à des RNA qui sont adénylés après la fécondation, alors que les 9 autres sont deadénylés. Il a été montré, par ailleurs dans le laboratoire, qu'il existe une corrélation stable pendant la période de développement précoce. La séquence de plusieurs de ces mRNA a été établie/Deux d'entre eux codent pour des protéines importantes dans la régulation du cycle cellulaire. L'une est homologue au *cdc2* de levure. Cette protéine est un des composant majeur du "Mitosis Promoting Factor" (MPF). L'autre possède une forte homologie avec une kinase cAMP dépendant qui pourrait intervenir dans le contrôle de la reprise de la méiose.

24

IMMORTALISATION A PARTIR DU TERATOCARCINOME DE LIGNEES CELLULAIRES CORRESPONDANT A DES STADES PRECOCES DE L'EMBRYOGENESE DE LA SOURIS.

Buc M.H.¹, Launay J.M.², Marie P.³, Kellerman O.¹

¹Institut Pasteur, Paris, ²Hôpital St. Louis, Paris, ³Hôpital Lariboisière, Paris.

La transformation de cellules de tératocarcinome par un plasmide recombinant adéno-SV40 nous a permis d'immortaliser plusieurs lignées "immatures" correspondant à des précurseurs de différents lignages de l'embryon de souris. Ces clones ont un phénotype stable; ils sont immortalisés par l'expression des oncogènes du virus SV40 et sont néanmoins capables, après induction *in vivo* et *in vivo*, de différencier selon un programme cohérent et reproductible. Nous décrivons la stratégie qui a été développée pour sélectionner avec une fréquence élevée des lignées permanentes présentant les caractéristiques d'une différenciation précoce. Nous détaillerons les propriétés de deux de ces clones (1) un clone mésodermique ostéogénique qui forme *in vivo* des ostéosarcomes et qui sous l'effet d'inducteurs tels que l'acide ascorbique et le β -glycérophosphate différencie et minéralise *in vitro* (2) un clone neuroectodermique qui acquiert, après induction, les systèmes de synthèse, de stockage et de transports spécifiques de la sérotonine. Nous montrerons l'intérêt de ces lignées immortalisées pour l'étude moléculaire des stades précoces de l'embryogénèse.