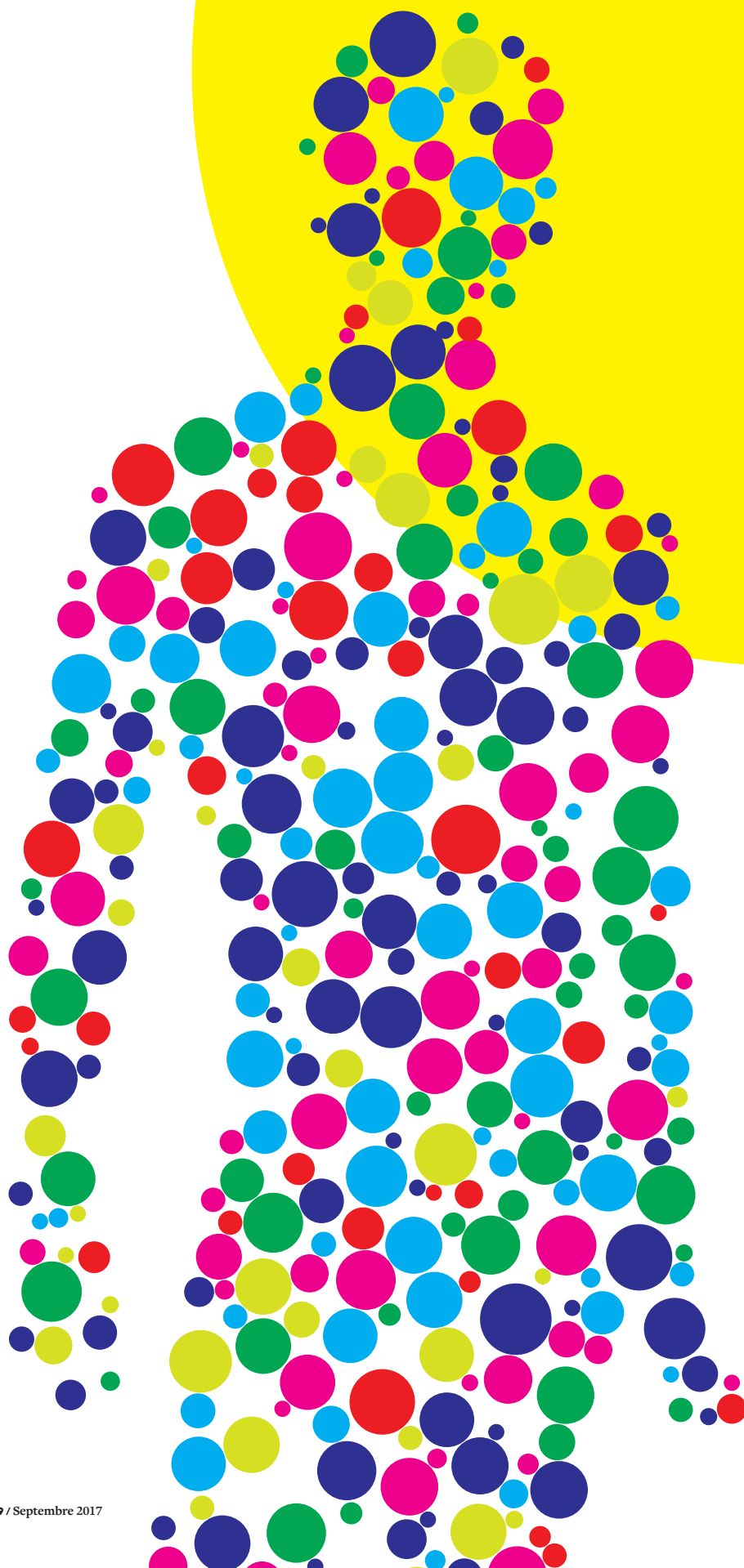




L'ESSENTIEL

> Le premier arbre généalogique cellulaire a été obtenu dans les années 1980 par le Britannique John Sulston. À l'aide d'un microscope, il a retracé le lignage de chaque cellule du ver *Caenorhabditis elegans*.

> Aujourd'hui, des généticiens tentent d'établir la généalogie des cellules du corps humain.

> En comparant les génomes des cellules d'un individu, ils déterminent leurs liens de parenté.

> Étudier la filiation des cellules humaines devrait notamment aider à mieux comprendre l'apparition des cancers et leur évolution.

L'AUTEUR



EWEN CALLAWAY
journaliste
à *Nature*

Suivre le devenir de chaque cellule du corps

LES BIOLOGISTES S'ATTAQUENT AUJOURD'HUI À UN DÉFI TITANESQUE : RETRACER LA FILIATION DE CHAQUE CELLULE LORS DU DÉVELOPPEMENT D'UN INDIVIDU, DE L'EMBRYON À L'ADULTE.

Au début des années 1980, durant 18 mois, John Sulston a passé ses journées à regarder grandir des vers. Chaque jour, au cours de deux sessions de quatre heures, John Sulston observait un embryon de *Caenorhabditis elegans* à l'aide d'un microscope optique et dessinait ce qu'il voyait toutes les cinq minutes : d'abord un seul œuf fertilisé, puis les deux cellules résultantes, puis quatre, huit et ainsi de suite. Il travaillait seul, dans son minuscule bureau au Laboratoire de biologie moléculaire du Medical Research Council, à Cambridge, au Royaume-Uni. Entre deux observations, il s'occupait avec un Rubik's cube. « Je me suis trouvé des distractions », s'est remémoré le biologiste lauréat du prix Nobel, aujourd'hui retraité.

Ses centaines de dessins ont révélé l'inflexible ballet des premiers stades du développement du ver, au cours desquels 671 cellules naissaient et 111 mouraient (ou 113, selon le sexe du ver). On pouvait y relier chaque cellule à sa cellule-mère ainsi qu'à sa >

> «grand-mère» via une série d'étapes variables. Grâce à cette cartographie et à d'autres qu'ils ont réalisées, John Sulston et ses collaborateurs ont construit le premier, et jusqu'à présent le seul, «arbre généalogique cellulaire» complet d'un organisme multicellulaire.

Si le désir de capter le développement d'un organisme avec un tel degré de détail a précédé

souches dans la régénération des tissus ou à lutter contre le cancer – une maladie entraînée par l'expansion incontrôlée de certaines lignées cellulaires. «Il y a un réel sentiment qu'une nouvelle ère s'ouvre», explique Alexandre Schier, un biologiste du développement à l'université Harvard, à Cambridge, dans le Massachusetts, qui utilise l'édition du génome pour retracer la généalogie cellulaire des poissons zèbres et d'autres espèces.

L'histoire d'une cellule est écrite dans son génome: chaque mutation acquise et transmise aux cellules-filles fait figure de sauvegarde. En 2005, l'informaticien Ehud Shapiro, de l'institut des sciences Weizmann à Rehovot, en Israël, a suggéré que les chercheurs utilisent les mutations naturelles des cellules humaines pour déterminer leurs liens de parenté. Il imagine un prolongement (au moins son concept) de la cartographie cellulaire de *C. elegans*, qu'il appela le *Human cell lineage project*. Mais la discipline n'était pas prête pour une telle avancée. «Quand nous avons proposé cette vision, ni le domaine de recherche ni le terme de génomique cellulaire n'existaient.»

Une décennie plus tard, les chercheurs ont développé une série d'outils puissants pour étudier la biologie de cellules individuelles, de leurs molécules d'ARN et leurs protéines jusqu'à leurs génomes, uniques et propres à chacune. Ehud Shapiro entrevoit maintenant un moyen de reconstituer le développement humain, image par image, de l'œuf fertilisé à l'adulte. «On veut le film complet en 3D, du début à la fin», clame-t-il. Pour réaliser un tel film, il n'est même pas nécessaire d'examiner le génome entier. L'équipe d'Ehud Shapiro se concentre sur des fragments répétitifs d'ADN disséminés à travers le génome, appelés microsatellites. Ces séquences ont tendance à muter plus fréquemment que le reste du génome. Son équipe travaille au séquençage de dizaine de milliers d'entre elles dans le génome de centaines de cellules humaines individuelles afin de déterminer comment elles sont reliées les unes aux autres.

UN NEURONE APPARENTÉ À UNE CELLULE DU CŒUR

Christopher Walsh, neuroscientifique et biologiste du développement à l'hôpital pour enfants de Boston et à la Harvard Medical School, doute que les chercheurs arrivent un jour à reconstruire une généalogie complète des cellules du corps humain comme ils l'ont fait pour *C. elegans*. Mais une cartographie incomplète serait déjà un progrès important. «J'étudie le lignage cellulaire dans le cortex depuis vingt-cinq ans et l'idée de le retracer directement dans le cerveau humain était un rêve inconcevable. Maintenant, c'est une réalité», explique-t-il.

Quand nous avons proposé cette vision, la génomique cellulaire n'existait pas

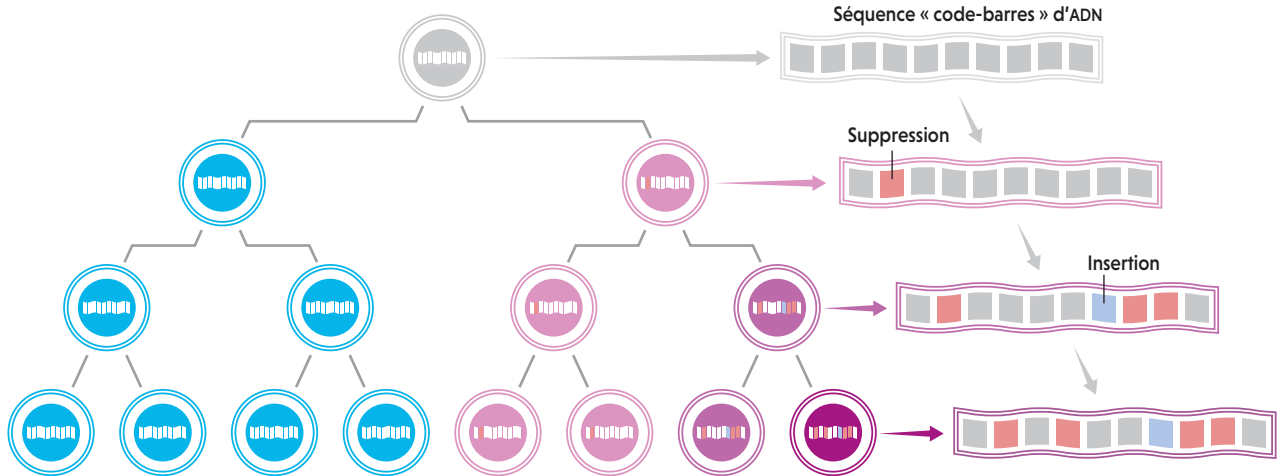
Ehud Shapiro,
de l'institut Weizmann, en Israël

les travaux de John Sulston d'au moins un siècle, il a toujours paru difficile de le faire sur un animal plus complexe. Personne ne peut suivre le destin de milliards de cellules humaines ou de souris avec simplement un microscope et un Rubik's cube pour passer le temps. Mais d'autres moyens existent aujourd'hui. Les révolutions dans l'édition et le séquençage du génome à l'échelle d'une cellule unique ont entraîné une renaissance de la cartographie des lignages cellulaires.

Ce domaine attire non seulement les biologistes du développement, mais aussi des généticiens convaincus que comprendre l'histoire d'une cellule – d'où elle vient et même ce qui lui est arrivé – est l'une des prochaines grandes étapes de la biologie. Pour le moment, les résultats ont mis en évidence des indices fascinants sur la manière dont les humains sont «construits». Par exemple, les cellules individuelles d'un organe comme le cerveau seraient plus proches de certaines cellules d'autres organes que des tissus qui les entourent. Et contrairement au développement bien balisé de *C. elegans*, celui des organismes plus complexes fait appel à un peu d'improvisation et de chance. Ce qui complique indéniablement les efforts pour en comprendre les rouages.

Mais même incomplète, la généalogie cellulaire peut-être utile. La cartographie de John Sulston a ouvert la voie à des découvertes concernant la mort cellulaire programmée ou les petites molécules d'ARN régulateurs. De nouvelles cartographies pourraient aider les chercheurs à élucider le rôle des cellules

Cet article a été publié initialement par *Nature* le 6 juillet 2017 sous le titre «The trickiest family tree in biology» (<https://www.nature.com/news/the-trickiest-family-tree-in-biology-1.22240>). Sa traduction et son édition ont été réalisées par *Pour la science*.



Les généticiens utilisent l'outil d'édition du génome CRISPR-Cas9 pour ajouter ou supprimer des fragments d'ADN dans une séquence « code-barres » du génome, sur plusieurs générations de cellules. Ensuite, en analysant les cellules une par une, ils retracent leurs liens de parenté à partir des séquences partagées dans le fragment « code-barres ».

Dans des expériences décrites en 2015, l'équipe de Christopher Walsh a séquencé les génomes complets de 36 neurones corticaux de trois individus sains décédés qui avaient donné leur cerveau à la science. La reconstruction du lien de parenté des neurones d'un même individu a révélé que des cellules étroitement liées pouvaient être dispersées dans tout le cortex, alors que des zones restreintes contenaient beaucoup de lignées distinctes. Les générations successives de cellules semblent s'aventurer loin de la zone où vivaient leurs ancêtres. Par exemple, un neurone cortical était plus étroitement lié à une cellule cardiaque du même individu qu'aux trois quarts des neurones qui l'entouraient. « Nous ne nous attendions pas à ce genre de résultat », remarque Christopher Walsh.

L'équipe de Christopher Walsh essaie actuellement de comprendre comment cette mosaïque cérébrale – où certaines cellules portent des variants différents d'un même gène – affecte la santé. Les chercheurs ont par exemple identifié des formes d'épilepsie qui surviennent même lorsqu'une petite proportion de cellules dans une infime partie du cerveau portent une mutation causant la maladie. Ils ont aussi découvert que des neurones d'un individu sain peuvent porter des mutations qui entraîneraient crises d'épilepsie et schizophrénie si elles étaient plus répandues. Ces travaux suggèrent que les conséquences varient selon la cellule où se produit une mutation. « La lignée détermine quelles maladies sont possibles », résume Christopher Walsh.

D'autres scientifiques mettent au jour, dans les génomes de cellules adultes, des vestiges d'événements qui se sont déroulés au début de la vie. Dans des expériences publiées

cette année, Michael Stratton, un généticien du Wellcome Trust Sanger Institute à Hinxton, au Royaume-Uni, et son équipe ont séquencé les génomes de globules blancs provenant de 241 femmes ayant un cancer du sein, à la recherche de mutations qui n'apparaîtraient que dans un sous-groupe de ces cellules. L'étude a révélé des mutations survenues très tôt dans le développement, peut-être même durant le stade embryonnaire à deux cellules. Les chercheurs ont aussi remarqué que les descendantes des cellules embryonnaires mutées ne contribuent pas de façon égale au système sanguin adulte. Peut-être parce qu'une cellule se multiplie plus efficacement qu'une autre ou, comme Michael Stratton le suggère, parce que, par le jeu du hasard, une cellule contribuera plus au développement d'un fœtus qu'à celui d'un placenta ou d'un autre tissu de soutien.

Selon Michael Stratton, les études futures rechercheront les goulets d'étranglement qui limitent la contribution de certaines lignées cellulaires durant le développement. « Nous commençons à entrevoir les règles du développement normal chez l'humain », note-t-il.

DES CODES-BARRES POUR SUIVRE LES MUTATIONS

Jay Shendure, un généticien de l'université de Washington à Seattle, se souvient encore du jour où l'histoire des cellules a commencé à le fasciner. À 14 ans, intéressé par la biologie et l'informatique, il avait écrit un programme pour modéliser un amas de cellules qui se multipliaient. Il voulait impressionner son oncle, un spécialiste en chirurgie reconstructive venu d'Inde en visite. « Il m'a dit : "C'est fantastique. Un jour, tu feras la même chose, mais au lieu d'un amas de cellules, il s'agira d'un bébé entier" », se remémore le scientifique.

Presque dix ans plus tard, Jay Shendure, alors en première année de thèse, travaillait pour le généticien George Church, de Harvard. George Church lui présenta une liste d'idées ➤

> (« qui paraissent toutes complètement absurdes », se souvient Jay Shendure) ; l'une d'elles était de reconstruire le lignage de plusieurs cellules à la fois, en une seule expérience. Jay Shendure s'escrima pendant six mois, manipulant l'ADN à l'aide d'enzymes, nommées recombinaisons, afin de créer, dans les génomes de bactéries, une trace qui resterait lisible lorsqu'elles se divisent. Au lieu de reposer sur des mutations naturelles, le système créerait des variants que l'on suivrait à la trace.

Jay Shendure finit par changer de projet, mais l'idée lui est revenue il y a quelques années lorsque deux étudiants, Aaron McKenna et Greg Findlay, ont rejoint son laboratoire à Seattle. Ils ont alors réalisé que l'outil d'édition du génome à la mode, CRISPR-Cas9, serait idéal pour introduire des mutations traçables dans n'importe quelle région souhaitée du génome. En travaillant avec le laboratoire du biologiste Alexander Schier, à l'université Harvard, ils ont introduit CRISPR-Cas9 dans deux embryons de poissons zèbres au stade une cellule après l'avoir programmé pour éditer (supprimer ou ajouter des fragments d'ADN) des séquences d'ADN repérables – des « codes-barres » qu'ils avaient insérés au préalable dans leurs génomes. Ils ont ensuite séquencé ces codes-barres dans les cellules d'un animal adulte et utilisé les mutations introduites pour reconstituer leur lignage.

DES VARIATIONS D'UN INDIVIDU À L'AUTRE

Les arbres de parenté qu'ils ont établis montrent qu'un petit nombre de lignées embryonnaires qui se forment au début du développement engendrent la majorité des cellules d'un organe donné. Plus de 98 % des cellules sanguines d'un poisson, par exemple, venaient de seulement cinq des mille lignées cellulaires que l'équipe avait retracées. Et même si ces cinq lignées contribuaient aussi à d'autres tissus, c'était en bien plus petite proportion. Elles étaient, par exemple, entièrement absentes des cellules musculaires du cœur, lequel était principalement construit à partir de son propre petit nombre de précurseurs. « Cela m'a profondément surpris », note Jay Shendure. Son collègue Alexander Schier ajoute qu'il essaye encore d'attribuer un sens aux données obtenues.

Jan Philipp Junker, un biologiste du développement spécialisé dans les approches quantitatives au centre de médecine moléculaire Max Delbrück, à Berlin, explique que les arbres généalogiques cellulaires varient probablement grandement d'un individu à l'autre et que la domination de certaines lignées observée par l'équipe de Jay Shendure et Alexander Schier pourrait être le résultat d'événements aléatoires. Les cellules d'un embryon au stade précoce se déplacent et seule une fraction

COMMENT UNE CELLULE SOUCHE CHOISIT SON DESTIN

Suivre le devenir de chaque cellule du corps est une chose.

Comprendre comment une cellule souche et sa descendance « décident » de s'orienter vers tel état différencié en est une autre, que l'étude des cellules individuelles commence aussi à éclairer. L'équipe d'András Páldi, de l'École pratique des hautes études (Paris), du Génomique (Évry) et de l'École normale supérieure de Lyon vient en effet de montrer que l'état différencié auquel aboutit une lignée de cellules n'est pas le fruit d'une instruction déterministe que la cellule souche mère aurait reçue au cours du développement, mais le résultat d'un processus aléatoire très dynamique.

Les biologistes se sont intéressés à des cellules connues pour se différencier en de nombreux types cellulaires : les cellules

souches hématopoïétiques, à la source des cellules qui assurent les différentes fonctions du sang. En culture, ils ont d'une part suivi en vidéomicroscopie l'évolution morphologique de chaque cellule issue d'une telle cellule souche en voie de différenciation. D'autre part, très régulièrement durant ce processus, ils ont analysé le profil d'expression des gènes de cellules individuelles.

Les chercheurs se sont ainsi aperçus que si des cellules s'orientaient vite vers un état différencié, d'autres, chacune à son rythme, oscillaient de manière aléatoire entre divers phénotypes avant de se stabiliser : elles semblaient hésiter, changeant plusieurs fois de morphologie sur plusieurs générations. Mieux, ces hésitations étaient corrélées avec des variations dans l'expression des gènes, comme si les cellules exploraient différentes possibilités en activant ou réprimant certains gènes, jusqu'à atteindre une combinaison stable de gènes actifs et la morphologie correspondante.

Ainsi, une cellule se différencie par essais et erreurs successifs. Que l'on perçoive la différenciation comme un processus de variation-sélection analogue à l'évolution, ce qu'a proposé le biologiste Jean-Jacques Kupiec dès les années 1980, ou comme une exploration que ferait la cellule dans un espace où chaque point correspondrait à un profil d'expression de ses gènes, une chose est sûre : le hasard joue un rôle clé dans le tracé de l'arbre généalogique des cellules.

MARIE-NEIGE CORDONNIER

A. Moussy et al., *Plos Biol.*, 27 juillet 17

contribue à l'organisme final. Pour lui, il serait plus révélateur de suivre des événements plus tardifs du développement, comme la formation des trois feuilletts germinatifs qui engendrent les organes, car ces événements sont moins gouvernés par le hasard.

Jan Philipp Junker et d'autres chercheurs ont développé pléthore d'autres techniques fondées sur CRISPR pour reconstituer des histoires liées au développement. Avec Alexander van Oudenaarden, biologiste des systèmes à l'université d'Utrecht, aux Pays-Bas, il a utilisé une telle approche pour suivre la régénération d'une nageoire blessée chez un poisson zèbre. Ils ont alors découvert que la régénération se déroulait selon un processus similaire à celui du développement : peu des lignées de cellules qui avaient donné naissance à la nageoire originale étaient perdues quand elle se recréait à partir de cellules souches. Cette découverte confirmait des études précédentes, mais cette fois, les méthodes fondées sur CRISPR ont permis à l'équipe de retracer le lignage de milliers de cellules en une seule expérience.

George Church explique que son équipe a utilisé CRISPR pour étudier le développement de souris et a réussi à suivre la division des cellules embryonnaires qui engendrent les trois feuillets germinatifs à partir desquels se forment tous les organes du corps. «Je ne pense pas que nous soyons si loin d'établir un lignage complet», dit-il.

Certains chercheurs aspirent à comprendre non seulement comment les cellules d'un organisme sont apparentées les unes aux autres, mais aussi ce qui leur arrive durant le développement. Michael Elowitz et Long Cai, tous deux de l'Institut de technologie de Pasadena, ont développé un traceur de lignée qui crée une sonde fluorescente les aidant à suivre l'histoire de cellules au cours de leur développement. Leur méthode permet de retracer si, dans une lignée donnée, certains gènes du développement ont été activés par le passé. Le 5 juillet, Michael Elowitz, Jay Shendure et Alexander Schier ont reçu une subvention de 10 millions de dollars pour quatre ans de la part du Paul G. Allen Frontiers Group pour combiner leurs technologies. Le trio prévoit de développer des



Je ne pense pas que nous soyons si loin d'établir un lignage complet



George Church, généticien à l'université Harvard

chromosomes de synthèse agissant comme des enregistreurs de l'histoire des lignées cellulaires et des événements moléculaires.

De tels enregistrements pourraient permettre aux scientifiques d'agir sur le développement d'une cellule de manière plus fine qu'avec les techniques actuelles de reprogrammation cellulaire, selon Tim Liu, biologiste de synthèse à l'Institut de technologie du Massachusetts (MIT), à Cambridge, qui travaille lui aussi sur une technique pour enregistrer l'histoire d'une cellule. «Dans le futur, on >

Toutes les archives



■ Pour la Science
■ Dossier
Pour la Science
depuis
1996

Disponibles sur www.pourlascience.fr*

*Numéros à lire en ligne ou à télécharger au format PDF

> pourrait voir certaines versions de ces enregistreurs incorporées dans les thérapies cellulaires», bien que ce ne soit pas pour tout de suite, admet-il. «Je ne vais pas injecter mon enregistreur CRISPR à un patient.»

La lutte contre le cancer est le domaine où les nouvelles méthodes pour établir les lignages cellulaires vont probablement d'abord faire leurs preuves. «Le cancer est une maladie de lignées – une maladie de cellules souches», explique Christopher Walsh. Des chercheurs se sont ainsi attelés à la recherche de l'origine des cellules métastatiques qui émergent de la tumeur primaire et envahissent parfois des organes distants. Elles semblent être les cellules cancéreuses les plus difficiles à vaincre et les plus susceptibles de tuer les patients.

Une équipe dirigée par Nick Navin, généticien au centre du cancer MD Anderson de l'université du Texas, à Houston, a publié en mai dernier une généalogie des cellules de deux cancers du côlon. Les résultats ont montré que les cellules métastatiques ayant envahi le foie partageaient un grand nombre de mutations avec les tumeurs primaires dont elles provenaient. Ce qui suggère que les métastases ont émergé à un stade tardif de la tumeur et qu'elles n'ont pas eu besoin de beaucoup de nouvelles mutations pour se répandre.

SUIVRE CHAQUE LIGNÉE TOUT AU LONG DE LA VIE

L'étude des lignages pourrait aussi montrer si les tumeurs se développent à partir d'une seule cellule, comme l'ont avancé des généticiens, ou si, au contraire, elles proviennent de plusieurs cellules, comme le suggèrent des études d'imagerie. Nick Navin pense que des approches similaires pourraient être utilisées pour orienter le traitement. Son équipe, ainsi que d'autres chercheurs, suivent des lignées de cellules cancéreuses chez des patients depuis le début de leur traitement. Ils espèrent que ces études mettront en lumière des lignées résistantes, ce qui aiderait les médecins à choisir des traitements plus adaptés et à les moduler au cours de la thérapie.

Cependant, à l'heure actuelle, dans ce domaine, les promesses devancent de beaucoup la réalité. Et le lignage cellulaire de *C. elegans* effectué par John Sulston domine toujours les tentatives actuelles. Stephen Quake, un bio-ingénieur de l'université Stanford, en Californie, a développé sa propre méthode fondée sur CRISPR pour suivre la généalogie des cellules et, comme John Sulston, il a décidé de la tester sur le petit ver. «C'est intéressant d'avoir une référence», explique-t-il. Avec son équipe, il a séquencé les génomes des cellules d'un animal adulte après avoir introduit des mutations à l'aide de CRISPR durant son développement. L'étude a duré bien moins

longtemps que l'année et demie nécessaire à John Sulston avec son microscope. Mais Stephen Quake note que le résultat obtenu était aussi moins complet. Certes, l'expérience a capté une transition clé dans le développement du ver – à savoir la séparation des cellules destinées à former l'intestin de celles concernant le reste de l'organisme –, mais il manque les

Nous ne savons pas combien de voies différentes il existe pour construire un cœur

Alexander Schier, biologiste du développement
à l'université Harvard

détails d'une grande finesse que John Sulston a observés de ses yeux. «Je vais être totalement franc, je ne suis pas très impressionné par mes résultats», explique Stephen Quake, qui n'a même pas prévu de publier son travail devant la prolifération des publications utilisant la même technique. «Personne n'a encore vraiment réussi pour l'instant», précise-t-il.

John Sulston aurait-il mis la barre trop haut avec *C. elegans*? Selon Jan Philipp Junker, «le concept de généalogie cellulaire est très influencé par le travail de Sulston». Et mériterait d'être repensé.

Chez les poissons, les souris et les humains, chaque généalogie cellulaire est unique et évolue au cours de la vie de l'individu, au fur et à mesure que les tissus se réparent et se régénèrent. Jan Philipp Junker et d'autres espèrent que les nouvelles techniques vont permettre aux biologistes de s'intéresser à la variabilité dans ces arbres généalogiques – entre les individus, entre leurs organes et dans le temps. Comme Alexander Schier le souligne: «Nous ne savons pas combien de voies différentes il existe pour construire un cœur.»

Pour Michael Elowitz, ce vaste inconnu pourrait rendre ce genre de travaux révolutionnaires. «Cela changera le genre de questions que l'on se posera.» La cartographie de John Sulston a guidé les biologistes sur un territoire inconnu et ces nouvelles techniques pourraient faire de même. «On ne peut pas vous dire ce que l'on va trouver, mais le sentiment général est que nous allons découvrir de nouveaux continents à explorer.» ■

BIBLIOGRAPHIE

J. E. Sulston et al., **The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans***, *Dev. Biol.*, vol. 100, pp. 64-119, 1983.

D. Frumkin et al., **Genomic variability within an organism exposes its cell lineage tree**, *Plos Comput. Biol.*, vol. 1, e50, 2005.

J. P. Junker et al., **Massively parallel clonal analysis using CRISPR/Cas9 induced genetic scars**, *Biorxiv*, 4 janvier 2017.

R. Kalhor et al., **Rapidly evolving homing CRISPR barcodes**, *Nature Methods*, vol. 14, pp. 195-200, 2017.

Le premier récit complet des
rencontres, parfois catastrophiques,
qui se produisent entre
les astéroïdes et les planètes !

