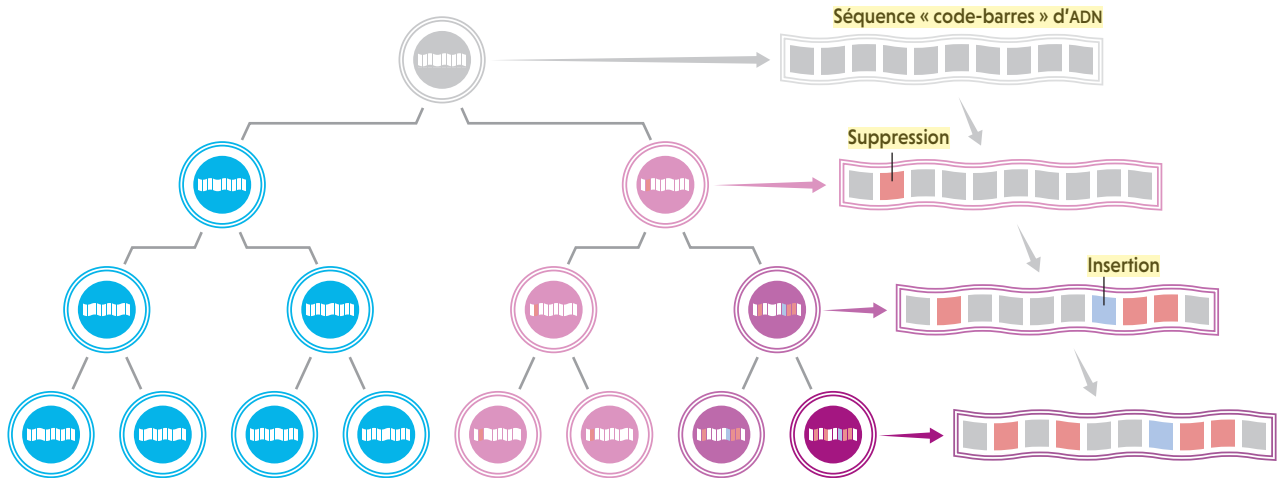




Les généticiens utilisent l'outil d'édition du génome CRISPR-Cas9 pour ajouter ou supprimer des fragments d'ADN dans une séquence « code-barres » du génome, sur plusieurs générations de cellules. Ensuite, en analysant les cellules une par une, ils retracent leurs liens de parenté à partir des séquences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