



HAL
open science

Étude de la correction des erreurs d'attachement durant la deuxième division de méiose dans l'ovocyte de souris

Antoine Langeoire-Casalta

► To cite this version:

Antoine Langeoire-Casalta. Étude de la correction des erreurs d'attachement durant la deuxième division de méiose dans l'ovocyte de souris. Biologie cellulaire. Sorbonne Université, 2023. Français. NNT : 2023SORUS663 . tel-04526718

HAL Id: tel-04526718

<https://theses.hal.science/tel-04526718>

Submitted on 29 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de doctorat de Sorbonne Université

Ecole doctorale Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique

Étude de la correction des erreurs d'attachement durant la deuxième division de méiose dans l'ovocyte de souris

Présentée par

Antoine Langeoire

Sous la direction du Dr. Eulalie Buffin

Dans l'équipe du Dr. Katja Wassmann

Équipe : La méiose et ses mécanismes

Institut Jacques Monod - CNRS - Université Paris Cité

Présentée et soutenue publiquement le 20 décembre 2023

Devant un jury composé de :

Dr. Marie-Emilie Terret	Présidente
Dr. Dimitri Liakopoulos	Rapporteur
Dr. Julie Welburn	Rapportrice
Dr. Antoine Guichet	Examineur
Dr. Gilliane Maton	Examinatrice
Dr. Eulalie Buffin	Directrice de thèse
Dr. Katja Wassmann	Invitée

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres de mon jury de thèse, **Dimitri Liakopoulos, Julie Welburn, Antoine Guichet, Gilliane Maton** et **Marie-Emilie Terret** d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse.

Je te remercie **Eulalie** pour ces quatre années passées à travailler ensemble sur ce projet. Merci d'avoir eu confiance en moi pour me choisir comme candidat pour cette thèse et d'avoir pris le temps pour que je réussisse le concours. Merci de m'avoir formé, appris la rigueur scientifique et la critique constructive de mes résultats. Merci également d'avoir pris le temps pour relire mon travail, m'aider à préparer mes présentations ou encore discuter de mes résultats. Merci de n'avoir jamais hésité à travailler tard le soir ou même les week-ends. Merci pour tous ces moments passés ensemble et d'avoir pu discuter de pleins de choses avec toi.

Je tiens à te remercier **Katja** pour m'avoir accueilli dans une équipe ayant une renommée et de m'avoir fait confiance. Merci de m'avoir montré comment on dirige une équipe efficacement. Merci également pour tous tes conseils judicieux.

Je remercie **Sandra** pour tous ces moments passés à discuter de Sciences et gossip ahahah. Merci pour tous ses moments de rigolade, d'animations et d'organisation du labo. Merci également d'avoir toujours été là pour m'aider au quotidien, pour les répétitions ou relire mon travail.

Merci beaucoup à **Aude** pour toutes ces discussions de Science et ces suggestions. Merci de m'avoir aussi écouté me plaindre et d'avoir toujours essayé d'améliorer la vie au labo.

Merci **Nora** de m'avoir beaucoup appris et guidé au début de ma thèse. Je te dois beaucoup pour toutes ces techniques et l'expérience. Tu as été pour moi un modèle en tant que super Docteur. C'était super de t'avoir dans ce labo avec moi et de pouvoir discuter de tout avec toi. Te voir partir a changé beaucoup de choses.

Merci **Leonor** d'avoir été doctorante avant moi dans ce labo et d'avoir travaillé toi aussi très tard le soir. Tu m'auras toujours impressionné par ta rigueur, tes présentations et ton courage. J'étais rarement seul le soir grâce à toi et également merci pour toutes ces discussions.

Thank you **Yulia**, for all discussions that helped me learn english everyday.

Merci **Dunja** d'avoir fait cette thèse également avec moi et pour toute cette bonne humeur au quotidien. Merci aussi de m'avoir écouté quand je râlais.

Ah la **Safia** ! Ce fut un plaisir de te rencontrer et que tu puisses faire ta thèse ici. Merci d'avoir été ma pote aussi et d'avoir partagé toutes ces galères avec moi. Je te souhaite le meilleur pour la suite de ta thèse et que tu puisses aller où tu le souhaite. Tu es vraiment très impressionnante ne l'oublie jamais et tu auras toujours mon admiration.

Merci à **Damien** de m'avoir initié à l'ovocyte de souris et de m'avoir appris la méthodologie. Merci aussi pour toute l'aide que j'avais besoin pour les galères de microscopie.

Je tiens à remercier également l'ensemble des stagiaires dont **Celia, Ferial, Louise, Ria, Barbara, Perrine** et tout particulièrement **Anastasia** pour ces moments très sympas. Gros courage pour le début de ta thèse. Merci aussi à **Irem** et bon courage pour le début de ta thèse.

Je voudrais également remercier les équipes **Galy** et **Carré-Teyssset** pour l'ambiance au C5. Merci à **Fanny** et **Jorge** pour tous ces midis à discuter et pour toute l'aide qu'ils m'ont apporté tout au long de ma thèse. Merci également à **Ferdinand** et **Enrico**.

Je voudrai aussi remercier les gens des équipes de l'institut Jacques Monod qui m'ont bien accueilli et pour leurs discussion le midi. Un grand merci à **Myriam** et **Anaïs**.

Mo famiglia du C5 :

Alors par où commencer ? Je voudrai commencer par **Mira** mais elle aura sa partie plus loin. Merci d'être également devenu mon amie.

Je voudrai remercier **Justine** notre Bretonne (il en faut toujours une) pour toutes ces discussions et ces supers moments. Ton soutien a été indispensable durant cette thèse. Je crois que nos discussions étaient la meilleure thérapie du siècle. Merci pour VMVDC aussi. Merci d'avoir été ma voisine, tu m'as impressionné par ton courage et franchement ta thèse tu vas la mériter. Fiesta le 22 ça part !

Je voudrai remercier mon cher **Raph**, franchement je ne sais pas quoi dire ! Je te kiff mec voilà ! Que ce soit toutes ces soirées, VMVDC ou THE rando. Merci d'avoir été là pour cette méga ambiance sérieux. T'es la famille ! Je mets la **Zoé** ici du coup, mais vraiment méga belle rencontre, je t'adore toi aussi. Et surtout faut pas oublier le torchon, j'ai appris ça !

Julie juste méga merci d'être là toi aussi ! Tu m'as beaucoup soutenu durant cette thèse. J'ai kiffé nos confidences et ces moments de rigolade. Ces bières et toutes ces soirées. Je serai toujours là pour te soutenir et on fêtera ta thèse quand ça sera ton tour. C'est promis !

La **Zoze** ! Quoi dire ! Ne change jamais mec ! J'ai toujours aimé ces moments avec toi, même nos discussions de politique bien vénère ahahah. Merci aussi pour toutes ces soirées et de nous avoir fait rencontrer la **Gitane**. Merci pour les bonnes ondes et juste d'être méga cool Cécile. Tu mets toujours un méga climat. Félicitations à vous deux aussi !

Merci aussi à la **Valoche** pour ces soirées très cool et tous ces verres. Merci aussi pour l'écoute lors de ces méga discussions.

Hop on met le **Rémysh** ici ! Car t'es un C5 Wesh ! Quoi dire ! Juste merci pour VMVDC et pour ces supers moments. T'es le meilleur et tu seras un méga prof frère. Malgré toutes ces difficultés tu as montré qui tu es mec ! Ne l'oublie jamais ! Merci pour ces verres et ces soirées difficile du COVID. Merci de m'avoir montré que l'on peut être le boss en présentation.

Merci aussi à **Momo** du C7 qui m'a beaucoup soutenu pendant ma thèse et que j'ai retrouvé ici par grand hasard ! Merci d'avoir été là dans les moments difficiles !

Merci aussi au **Johnny** qui a aussi été une belle rencontre au C7.

Mon Brainstorm :

Je vais commencer par faire un méga merci à **Agathe** ! Juste je n'aurai pas réussi ce manuscrit sans toi ! Ma compagne de galère ! Merci beaucoup pour le remontage de moral ! Franchement écrire la thèse avec toi jusqu'à 5 heures du mat était la meilleure idée du siècle ! On était méga productif ! Je n'oublierai jamais cette étape de ma vie et tu en fais partie ! Tu vas tout déchirer le 15 décembre let's go !

El Symon ! Merci gars pour tout ! Une super rencontre toi ! Merci pour les verres, les soirées, l'ENS :), les festivals, les randos et j'en passe. Merci pour l'anniv surprise. Merci pour le soutien lors de cette thèse.

Cuong la légende ! Merci à toi franchement pour tout et de m'avoir intégré au Brainstorm. Merci pour ces verres interminables qui finissent en grec à 2 heures du matin. Merci de ouf pour ces moments de décompression. Et tes visites surprises au lab à 3 heures du matin ahahah. Les galères étaient plus agréables quand t'étais là !

Agnès ! Merci à toi pour tous ! Merci pour toutes ces soirées et activités. Merci pour ta bonne humeur et ton investissement pour toujours faire plaisir à tes potes. Merci d'avoir passé du temps avec nous pendant l'écriture et de m'avoir écouté. Merci aussi de t'être soucieux de moi lors de ces derniers mois, cela m'a beaucoup touché.

Max merci pour ces moments et ces soirées aussi ! Toujours du gros fun et du tapage de pied à fond ! T'es le best !

Clara merci à toi pour ces moments très drôle et les discussions bien longues en soirée.

Jojo pareil toi aussi merci pour ces moments juste zen et à pas se prendre la tête et juste kiffer les moments autour d'une bonne (mouais) bière. RIP la coupe du monde pour la France.

Baptiste merci à toi aussi pour ces soirées et ces moments pas simple lors du COVID.

Samar merci à toi pour tous ces moments lors des journées de l'ED et à l'IDPA. Merci de m'avoir tenu compagnie et pour toutes ces discussions.

Archange, merci à toi d'avoir partagé des moments cool en soirée avec moi et ces discussions autour des lego. Cool d'avoir un pote qui kiff comme moi cet univers. T'inquiètes y aura des shots dans le futur.

Merci à **Félix** pour ces soirées aussi et de toujours ramener une bonne humeur et des méga discussions. Merci pour le soutien lors de l'écriture entre deux comptages de graines. Merci **Valentine** pour les super discussions et la bonne humeur.

Merci **JS** pour les soirées et toutes ces bières. Toujours cool de te voir.

Vis ma vie de chercheur :

J'en profite pour remercier les potos de VMVDC ! Une magnifique mission avec des gens géniaux ! Une vraie bouffée d'air frais en dehors du labo ! **Yoann** merci frerot ! **Elsa** pour m'avoir tant appris et d'être devenu ma poto. Merci à **Hélène, Flami, Juliane.**

Mention spéciale à **Ségo** ! Merci pour les supers rando et de m'avoir initié au marathon ! T'es une méga sportive ultra impressionnante tu sais !

Mo famiglia :

Du coté de ma famille, je voudrai remercier **Marine** ! C'est qui déjà ? Bon, j'arrête ! Je te remercie toi aussi ma petite sœur pour ton soutien au quotidien ! Merci d'avoir toujours été là pour moi et de m'aimer pour qui je suis. J'ai énormément de chance de t'avoir et nos disputes je les aime aussi tu sais. Merci mon petit piment <3 et d'être aussi là pour juste me rappeler un peu de maman chaque jour. Je sais qu'elle serait fière de ce que tu es devenu et la force que tu as ! Au passage tu as sa tête ! Des bisous. Alors hop ! On met le **Valou** ici ! Merci d'être là toi aussi ! Et de supporter notre famille ! Wesh mec t'es vaillant de supporter ça ! Juste d'être top et d'être là.

Merci **Papa** pour être toujours là quand j'ai besoin et de toujours accourir quand j'ai un problème. Merci aussi d'avoir toujours été là financièrement car oui c'est important. Pleins de bisous. Merci **Mamie** d'être aussi là et de toujours t'inquiéter pour moi. Merci aussi à **Mina** et **Papy**. Merci **Nathalie** et les **cousins** aussi. **Bianca** et les cousins aussi ! On se voit peu mais on sait être là quand il le faut. Des bisous

Mirage ! Oh toi tu vas critiquer la longueur de mes remerciements ! Je vais juste commencer par dire la chance que j'ai eu de te rencontrer et de m'avoir motivé à venir les dimanches ahahah. Merci d'avoir créé cette ambiance au C5. Juste merci d'être mon bébé chat et d'avoir été là pour me remettre les idées en place quand il le fallait. Merci d'avoir cru en moi quand beaucoup n'y croyaient pas. Merci d'avoir changé ma vie et de l'avoir rendu si belle. Hâte du futur avec toi ! Le soutien, les brunchs, les randos, les soirées de chat, etc. Merci d'être la plus belle chose de ma thèse <3.

Un méga remerciement pour le **Doc Dré** que j'aime. Merci d'être toujours là quand j'ai besoin et d'être juste toi. T'es mon bro et faire cette thèse en même temps que toi c'était magique. On était encore en PLS en même temps yes ! On n'a rien lâché et on a toujours fait plus ! On se refera vl'a les ramens alle (kintaro time) ! Des bisous !

Je remercie aussi la **Sophie** que je connais depuis si longtemps. Merci d'être toi, merci pour tous ces moments et ce soutien. Merci pour ta bonne humeur et ce GR20 magique que je n'oublierai jamais. Merci d'être une sœur pour moi et d'accourir à chaque fois. Merci d'être mon amie si top. Des bisous.

Je remercie **Célia** pour tous ces moments au long du master puis de la thèse. Je n'oublierai jamais ce jour où on a eu l'ED ensemble avec les larmes. Merci pour les petits déjs fait pleins de fois, ou la piscine fait moins de fois ahahah. Merci de m'avoir accueilli au festival des Vieilles Charrues et de m'avoir nourri ahahah ! Merci toi !

La petite **Marie**, je voudrai te remercier aussi pour ces moments et ces soirées à prendre un verre. Tu m'as énormément aidé à tenir pendant la COVID. Tes moments en Italie ne nous ont jamais éloigné et ce n'est pas près d'arriver dans le futur. Merci d'être mon amie au quotidien.

Merci **Agathe** pour toutes ces discussions du fun et gossips ! Tu râles beaucoup c'est vrai ahahah mais on ne s'ennuie jamais. Merci de toujours répondre présente pour la fiesta et de toujours être motivé.

Merci **Zoé** ! Pour tous ces magnifiques moments durant mes études et d'avoir fait autant de soirées avec moi. Ces moments en Corse ou à Royan. Merci pour toute cette joie de vivre. Pleins de bisous.

Bon j'ai trop de gens qui me sont cher dans ma vie donc c'est long là ! **Pierre** merci d'avoir été toujours là et pour ta bonne humeur. Merci pour toutes ces séances de PPG ensemble !

Merci **Dèle** d'être là toi aussi ! Merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir beaucoup encouragé. De toujours organiser pleins de trucs, ça fait toujours du bien de voir ses amis et de passer autant de moments ensemble.

Merci à **Lulu** pour kiffer autant que moi la musique et faire la fiesta. Merci **Eleo** pour me donner le sourire, ces soirées magiques et me faire toujours sourire.

Merci « **Eva** » (et bim ça s'est fait !) d'être mon bro Dino et de toujours répondre à l'appel pour passer des super soirées. Merci à **Lorène** d'être aussi toujours là pour ces super soirées. Merci **Julia** pour ces moments aussi. Merci **Bru** d'avoir toujours des trucs à raconter et d'être un mega cuisto.

Merci mon **Thomy** d'être toi ! C'est dur de t'avoir si loin au Canada mais je ne t'oublie pas ! On se verra toujours d'avantage dans le futur.

Merci **Julien** d'être mon bro ! On se voit peu mais je sais que j'ai toujours ton aide dès que j'ai un problème. Courage pour la fin de ta thèse. Des bisous.

Merci au **Thomas C** d'être mon ami, on se voit peu mais c'est pareil je sais que je peux compter sur toi.

Virginie pour ces moments de rando et ces soirées passées ensemble juste magique !

Merci **Petite Marseille** même si t'es à Nice et que l'on se voit peu. Mais c'est toujours cool d'avoir de tes news !

Merci **Maryam** pour toutes ces discussions et ces moments où tu as su être là pour me remonter le moral. Merci pour tous ces verres et ces moments !

Merci **Pene** pour le soutien et les super soirées. Merci pour toutes ces discussions sur la passerelle et ces pauses vraiment nécessaires.

Merci aux filles de Mada pour les soirées et les verres ! Toujours mega cool d'être devenu si pote après cette belle aventure avant le début de ma thèse. **Eva, Amande, Sarah, Fanny et Emma**. Petite mention pour **Chri** avec qui j'ai vécu pleins d'aventures et de soirées improbables. Je vous kiff !

Merci à toute ma team du master bip : **Salamambo** mon binôme des chats, **Julie, Gab, Sona, Christie et Arthur**. Pareil je ne vous oublie pas !

Merci à ma team du lycée ! **Laura, Cécile, Bibi et Guillaume**.

Table des matières

RESUME	2
LISTE DES FIGURES	3
ABREVIATIONS	4
INTRODUCTION	7
I. LA DIVISION CELLULAIRE	8
A. <i>Le cycle cellulaire</i>	8
L'organisation du cycle <i>cellulaire</i>	8
La régulation du cycle par les complexes Cdk-Cycline	8
La régulation du cycle par la dégradation protéique	11
La régulation du cycle par les points de contrôle	12
B. <i>La division mitotique</i>	14
Les étapes de la mitose	14
La cohésion des chromosomes en mitose	16
C. <i>La division méiotique</i>	21
Les spécificités de la méiose par rapport à la mitose	21
La protection/ déprotection des cohésines en méiose	23
II. LA FORMATION DE L'OVOCYTE DE MAMMIFERE	28
A. <i>L'ovogénèse et la folliculogénèse</i>	28
B. <i>L'arrêt en prophase I et la reprise de la méiose</i>	30
C. <i>La maturation méiotique</i>	34
D. <i>L'arrêt en métaphase II et la fécondation</i>	37
E. <i>Les erreurs de ségrégation dans l'ovocyte</i>	39
III. LA FORMATION DU FUSEAU BIPOLAIRE	42
A. <i>Généralité sur le fuseau</i>	42
B. <i>Le modèle amélioré de recherche et capture en mitose</i>	44
C. <i>L'assemblage autonome du fuseau dans les ovocytes</i>	46
IV. COORDINATION ENTRE L'ATTACHEMENT DES CHROMOSOMES ET L'ANAPHASE	50
A. <i>L'interaction kinétochore-microtubule</i>	50
B. <i>La correction des erreurs d'attachements</i>	53
Les erreurs d'attachements	53
Le CPC (Chromosome Passenger Complexe)	55
Le mécanisme de correction en mitose	57
Rôle d'Aurora A dans le mécanisme de correction	60
C. <i>Le contrôle de la transition métaphase-anaphase</i>	61
Le SAC (Spindle Assembly Checkpoint)	61
Le recrutement des protéines du SAC et formation du MCC	64
L'inactivation du SAC	65
V. CONTEXTE ET OBJECTIFS	67
A. <i>La génération de la tension</i>	67
B. <i>La sensibilité à la tension en méiose I</i>	69
Aurora B/C est requise pour la correction des attachements en méiose I	69
La tension n'est pas requise pour la stabilisation des attachements en méiose I	71
Une tension réduite active la correction des attachements	71
C. <i>Projet de thèse</i> :	74
RESULTATS	76
ARTICLE : L'ARRET PROLONGE EN METAPHASE II AFFAIBLIT LE MECANISME DE CORRECTION DEPENDANT DES KINASES AURORA B/C DANS LES OVOCYTES DE SOURIS	77
DISCUSSION	81
BIBLIOGRAPHIE	90

Résumé

Les gamètes sont formés par deux divisions successives (méiose I et II). Les chromosomes homologues se séparent lors de la méiose I et les chromatides sœurs en méiose II, générant ainsi des gamètes haploïdes. Les erreurs de ségrégation sont particulièrement fréquentes dans les ovocytes de mammifères et entraînent des fausses couches ou des trisomies. L'attachement bipolaire des chromosomes au fuseau méiotique est une condition préalable à leur ségrégation correcte lors des deux divisions méiotiques.

En mitose et en méiose I, le CPC (Chromosomal Passenger Complex) déstabilise sélectivement les attachements microtubules-kinétochores incorrects qui sont caractérisés par une tension faible au niveau du kinétochore. En parallèle, le SAC (Spindle Assembly Checkpoint) détecte les kinétochores non attachés et bloque la ségrégation des chromosomes jusqu'à ce que les attachements corrects soient établis. Ainsi, après une série d'attachement/détachement des microtubules, le mécanisme de correction permet l'établissement d'un attachement correct conduisant à l'inactivation du SAC et le passage en anaphase.

Après la méiose I, les ovocytes de mammifères s'arrêtent en métaphase II et attendent la fécondation par le spermatozoïde. Mon projet de thèse visait à déterminer si le CPC est fonctionnel en méiose II dans les ovocytes de souris. Pour cela, mon approche expérimentale a consisté à mimer des attachements incorrects en réduisant chimiquement la tension au niveau du kinétochore, puis à observer la ségrégation des chromosomes par vidéo-microscopie en temps réel.

Mes résultats ont montré que lorsque la tension est réduite en métaphase II précoce, l'anaphase II est fortement retardée. De plus, après inhibition du CPC ou du SAC, les ovocytes sont capables de rentrer en anaphase II malgré la tension réduite au kinétochore. Donc, le retard de l'anaphase II est dû à l'activité du CPC et du SAC. Ainsi, en métaphase II précoce, le CPC est bien fonctionnel et est capable de détecter les erreurs d'attachement.

Cependant, lorsque la tension est réduite en métaphase II tardive, les ovocytes entrent en anaphase II sans retard comparé à des ovocytes contrôles. Ainsi, une tension faible en métaphase II tardive n'est pas détectée efficacement et n'induit pas l'activation du CPC et du SAC. Ceci est dû au fait que le niveau de la phosphatase PP2A au niveau des centromères augmente en métaphase II tardive et contrecarre l'activité du CPC. Ainsi seuls les ovocytes en métaphase II précoce et non tardive peuvent répondre à une faible tension et induire la correction des erreurs d'attachement.

Ainsi, Bien que les ovocytes soient arrêtés et qu'ils aient du temps pour corriger les erreurs d'attachement, le CPC s'affaiblit au cours du temps et laisse un certain nombre d'erreurs non corrigées. Finalement, ces résultats contribuent à notre compréhension de l'origine des aneuploïdies liées à la méiose II dans les ovocytes de mammifères.

Liste des figures

Figure 1. Les points de contrôle et de restriction du cycle cellulaire

Figure 2. Les étapes de la division mitotique.

Figure 3. L'élimination des cohésines en mitose.

Figure 4. La dissociation des cohésines sur les bras des chromosomes en prophase.

Figure 5. Le clivage des cohésines centromériques en anaphase.

Figure 6. La ségrégation des chromosomes en méiose.

Figure 7. Représentation des différents complexes de cohésine en méiose.

Figure 8. La protection des cohésines centromériques en méiose I.

Figure 9. L'arrêt en prophase I et la reprise de la méiose.

Figure 10. La maturation méiotique dans l'ovocyte de souris.

Figure 11. L'entrée en anaphase I.

Figure 12. L'arrêt en métaphase II et la fécondation.

Figure 13. Nucléation des microtubules à partir du gradient de RanGTP.

Figure 14. L'assemblage autonome du fuseau dans l'ovocyte de souris.

Figure 15. Structure des kinétochores chez les eucaryotes.

Figure 16. Les différents types d'attachement en mitose et méiose.

Figure 17. Modèle de stabilisation/déstabilisation des attachements en mitose.

Figure 18. L'entrée en anaphase est régulée par le SAC.

Figure 19. La formation du complexe MCC aux kinétochores non attachés.

Figure 20. La tension en mitose et en méiose.

Figure 21. Détection de la tension en méiose I.

Abréviations

<i>γ-TuRC</i>	<i>(γ-Tubulin Ring Complex)</i>
AC	(Adénylate Cyclase)
ADN	<i>(Acide désoxyribonucléique)</i>
AMPc	(Adénosine-Monohosphate cyclique)
aMTOC	(acentriolar MicroTubule Organizing Center)
APC/C	(Anaphase Promoting Complex/Cyclosome)
ARN	(Acide RiboNucléique)
Arpp19	(cAMP-regulated phosphoprotein 19)
C-Mad2	(Closed-state Mad2)
CamKII	(Calmodulin-dependant protein Kinase II)
CCAN	(Constitutive Centromere-Associated Network)
Cdk	(Cyclin dependent kinases)
Chk1/2	(Checkpoint <i>kinase</i> 1/2)
CK1δ/ε	(Casein Kinase 1)
CPC	(Chromosome Passenger Complex)
CSF	(CytoStatic Factor)
dbcAMP	(dibutyryl cAMP)
<i>Eg5</i>	<i>(Kinésine-5)</i>
Emi1/2	(Early mitotic inhibitor 1/2)
ENSA	(α-endosulfine)
FSH	(Follicle Stimulating Hormone)
GMPc	(Guanosine-Monophosphate cyclique)
GV	(Germinal Vesicle)

GVBD	(Germinal Vesicle BreakDown).
Gwl	(Greatwall)
INCENP	(Inner Centromeric Protein)
Inter-KT	(Inter-kinétochore)
KT-MT	(Kinétochore-Microtubule)
LH	(Luteinizing Hormone)
MAPK	(Mitogen-Activated Protein Kinase)
MCC	(Mitotic Checkpoint Complex)
MPF	(Maturation Promoting Factor)
MTOC	(Microtubule Organizing Center)
NEBD	(Nuclear Envelope BreakDown)
NuMa	(Nuclear protein that associates with the Mitotic apparatus)
O-Mad2	(Open-state Mad2)
PCM	(Pericentriolar Material)
PDE3A	(Phosphodiesterase 3A)
PGC	(Primordial Germ Cells)
PKA	(Protéine Kinase A)
Plk1/4	(Polo like kinase 1/4)
PP1	(Protein phosphatase 1)
PP2A-B55	(Protein phosphatase 2A-B55)
PP2A-B56	(Protein phosphatase 2A-B56)
Ran-GEF	(Ran Guanine nucleotide Exchange Factor)
RanGAP1	(Ran GTPase-Activating Protein 1)
RCC1	(Regulator of Chromosome Condensation 1)
RZZ	(Rod-Zw10-Zwilch)

SAC	(Spindle Assembly Checkpoint)
SAF	(Spindle-Assembly Factors).
SCF	(SKP1-CUL1-F-box-protein)
Sgo1/2	(Shugoshin 1/2)
Smc	(Structural maintenance of chromosome)
STLC	(S-Trityl-L-Cystéine)
TPX2	(Targeting Protein for Xklp2)

Introduction

I. La Division cellulaire

A. Le cycle cellulaire

L'organisation du cycle *cellulaire*

Le cycle cellulaire est une série ordonnée de quatre phases qui aboutissent à la division d'une cellule mère en deux cellules filles. La phase G1 permet à la cellule de croître et de préparer la réplication de l'ADN. En phase S, la réplication de l'ADN permet d'obtenir des chromosomes composés de deux chromatides sœurs. Enfin, après la phase G2, la cellule se divise au cours de la phase M et partage ses chromosomes entre deux cellules filles. Les phases G1, S et G2 constituent l'interphase. La phase M peut être une division mitotique ou méiotique. La mitose permet de passer d'une cellule mère à deux cellules filles génétiquement identiques et induit la prolifération cellulaire. La méiose se caractérise par deux divisions successives permettant de passer d'une cellule diploïde à quatre cellules haploïdes. Elle concerne uniquement les cellules germinales et permet la production des gamètes. La cellule peut aussi sortir du cycle cellulaire et entrer en phase de quiescence G0, lorsque les conditions sont défavorables au bon déroulement du cycle cellulaire ou pour se différencier.

La régulation du cycle par les complexes Cdk-Cycline

La progression ordonnée des différentes phases du cycle cellulaire est étroitement régulée par différents complexes Cdk-Cycline qui sont extrêmement conservés et dont la dérégulation est observée dans de nombreux cancers

(Malumbres et al., 2009). Les Cdk (Cyclin dependent kinases) sont des sérine/thréonine kinases qui forment la sous-unité catalytique du complexe. Leur interaction avec une sous-unité régulatrice, les Cyclines, est essentielle pour l'activité des Cdk. La formation d'un complexe Cdk-Cycline spécifique à un moment donné du cycle cellulaire permet le déroulement des différentes phases dans le bon ordre (Murray, 2004). Le niveau d'expression des Cdk étant constant au cours du cycle cellulaire, c'est la présence des différentes cyclines à des moments précis du cycle qui gouverne la formation des différents complexes (Roskoski, 2019). Par exemple, le complexe Cdk2-Cycline E est nécessaire pour l'entrée en phase S et le complexe Cdk2-Cycline A contrôle le déroulement de la réplication. Cela illustre qu'une même Cdk peut s'associer avec différentes cyclines et remplir différents rôles en phosphorylant différents substrats. Par la suite, le complexe Cdk1-Cycline B, appelé également MPF (M-phase Promoting Factor), joue un rôle crucial dans l'entrée en mitose ou en méiose (Satyanarayana et al., 2009).

En plus de leur association avec une Cycline, les Cdk sont régulées par phosphorylation. Ainsi, les kinases Wee1/Myt1 phosphorylent Cdk1 sur les résidus Thr14 et Tyr15 et inhibent son activité. Au contraire, la phosphatase Cdc25 déphosphoryle Cdk1 sur ces résidus pour activer le complexe (Oh et al., 2010). De plus, la CAK, composée de l'association entre Cdk7, Cycline H et Mat1 phosphoryle Cdk1, Cdk2, Cdk4 et Cdk6 sur la Thr161 et permet leur activation (Lolli et al., 2005).

Les complexes Cdk-Cyclines phosphorylent différentes cibles au cours du cycle cellulaire. En phase G1, les complexes Cdk4/6-Cycline D phosphorylent la protéine Rb qui maintient le facteur de transcription E2F inactif. Cela libère E2F qui active l'expression de gènes codant pour des protéines nécessaires à la réplication de l'ADN

telles que Cdc6, protéine du complexe de pré-réplication (Ren et al., 2002). E2F active aussi l'expression séquentielle de la Cycline E et de la Cycline A permettant l'activation de Cdk2 nécessaire à la réplication de l'ADN et à la duplication des centrosomes en phase S (Hinchcliffe et al., 1999; Meraldi et al., 1999) (**Figure 1**). A la transition G2/M, Cdk1-Cycline B phosphoryle par exemple les Lamines de type A et B, induisant la rupture de l'enveloppe nucléaire (Peter et al., 1990; Simon et al., 2013) ou la Condensine II et l'Histones H1, induisant la condensation des chromosomes (Langan, et al., 1989; Domingo-Sananes et al., 2011; Abe et al., 2011; Seibert et al., 2019). Cdk1-Cycline B est impliquée dans la phosphorylation de nombreuses protéines mitotiques impliquées dans la séparation des pôles, la formation du fuseau, l'alignement des chromosomes (Enserink et al., 2010).

En parallèle, l'activité kinase des Cdk est contrecarrée par des phosphatases qui déphosphorylent leurs substrats. Par exemple, l'activité de Cdk1 est contrecarrée par les phosphatases PP2A-B55 (Protein phosphatase 2A-B55) et PP1 (Protein phosphatase 1). Pendant la mitose, la kinase Gwl (Greatwall) phosphoryle Arpp19 (cAMP-regulated phosphoprotein 19) et ENSA (α -endosulfine) qui inhibent la phosphatase PP2A-B55 et favorisent ainsi la phosphorylation des substrats par Cdk1. Au contraire à la fin de la mitose, Cdk1 est inactivée suite à la dégradation de la Cycline B et PP2A-B55 est activée suite à l'inactivation de Gwl, déphosphorylant ainsi les cibles de Cdk1 et permettant le retour en interphase (Castro et al., 2018; Vigneron et al., 2016).

La régulation du cycle par la dégradation protéique

L'association des Cdk-Cyclines et leur dissociation sont essentielles pour passer d'une phase à une autre (Fung et al., 2005). Par conséquent, la dégradation des Cyclines, mais également d'autres régulateurs du cycle, est fondamentale pour la progression du cycle cellulaire. Pour cela, elles doivent être adressées au protéasome 26S suite à leur ubiquitination à un moment précis. Ainsi, deux systèmes d'ubiquitination interviennent dans la régulation du cycle cellulaire. L'APC/C (Anaphase Promoting Complex/Cyclosome) et le SCF (SKP1-CUL1-F-box-protein) sont des E3 ubiquitine ligases permettant l'adressage de différentes protéines au protéasome 26S à différents moments du cycle. L'APC/C est régulé par les coactivateurs Cdc20 et Cdh1 qui vont l'orienter successivement vers différentes cibles (Nakayama et al., 2006). Associé à Cdc20, l'APC/C induit l'ubiquitination de la Cycline B permettant sa dégradation, et par conséquent l'inactivation de Cdk1 en fin de mitose. Puis associé à Cdh1, l'APC/C induit l'ubiquitination et la dégradation de Cdc20. En G1, l'APC/C-Cdh1 ubiquitine la Cycline E pour empêcher son accumulation et l'entrée prématurée en phase S. Tant que Cdh1 active l'APC/C, un nouveau cycle cellulaire ne peut pas débuter (Watson et al., 2019). Un nouveau cycle est initié suite à l'activation du SCF qui ubiquitine Cdh1 et induit sa dégradation par le protéasome 26S. En parallèle, Emi1 (Early mitotic inhibitor 1) se lie avec Cdc20 pour empêcher l'activation de l'APC/C. Ainsi lors de l'interphase, l'APC/C est maintenu inactif (Reimann et al., 2001; Coulombe et al., 2009; Pal et al., 2020). Lors de la transition G2/M, Cdk1-Cycline B phosphoryle Emi1 qui est alors ubiquitinée par le SCF puis dégradée (Hansen et al., 2004). Cdc20 est alors libre d'activer l'APC/C pendant la mitose (Margottin-Goguet et al., 2003).

La régulation du cycle par les points de contrôle

La progression du cycle cellulaire, et en particulier les transitions entre les phases, est étroitement régulée par les complexes Cdk-Cyclines. Par ailleurs, le cycle est régulé par des mécanismes de surveillance qui vérifient la bonne exécution de certaines étapes. Ces mécanismes peuvent arrêter le cycle à des moments précis si une étape n'est pas correctement achevée. Ces mécanismes de surveillance sont essentiels au bon déroulement du cycle cellulaire. En cas d'anomalie, ces mécanismes mettent en jeu des voies de signalisation ciblant la régulation d'un complexe Cdk-Cycline. Ils empêchent la progression du cycle cellulaire et permettent de créer une « pause » pour corriger les anomalies si cela est possible.

Le « DNA damage checkpoint » vérifie qu'il n'y a pas de cassures de l'ADN, et que l'ADN a été correctement répliqué lors de la phase S. En cas d'anomalie au niveau de l'ADN, ce système peut bloquer les cellules soit en G1 pour éviter la réplication d'ADN endommagé, soit en G2, pour éviter de transmettre des erreurs d'ADN aux cellules filles. Dans les cellules de mammifères, des dommages à l'ADN en G2 entraînent l'activation des kinases ATR/ATM puis Chk1/Chk2 (Checkpoint kinase 1/2) qui phosphorylent Cdc25 et entraînent sa dégradation. La phosphatase Cdc25 étant essentielle pour l'activation de Cdk1, sa dégradation empêche l'entrée de la cellule en phase M. De plus, Chk1/Chk2 contribuent à stabiliser le facteur de transcription P53 qui permet à son tour l'expression de P21 qui inhibe l'activité de Cdk1. Cela a pour conséquence un arrêt en phase G2 permettant la réparation de l'ADN. Si les dommages sont trop importants et ne peuvent pas être réparés, la cellule se dirige vers la mort cellulaire (Yam et al., 2022) (**Figure 1**).

Un autre système de surveillance est le « Spindle Assembly Checkpoint » (SAC) qui vérifie le bon déroulement de la phase M. En cas d'anomalies de l'attachement des

chromosomes sur le fuseau, le SAC maintient le complexe Cdk1-Cycline B actif et empêche la sortie de la mitose. Le SAC est retrouvé en mitose et en méiose (Marston et al., 2017) et est essentiel pour la ségrégation correcte des chromosomes. Un défaut de ce mécanisme entraîne la formation de cellules aneuploïdes avec un nombre incorrect de chromosomes (**Figure 1**). Ce mécanisme sera traité plus en détail dans la partie C du chapitre IV de ce manuscrit.

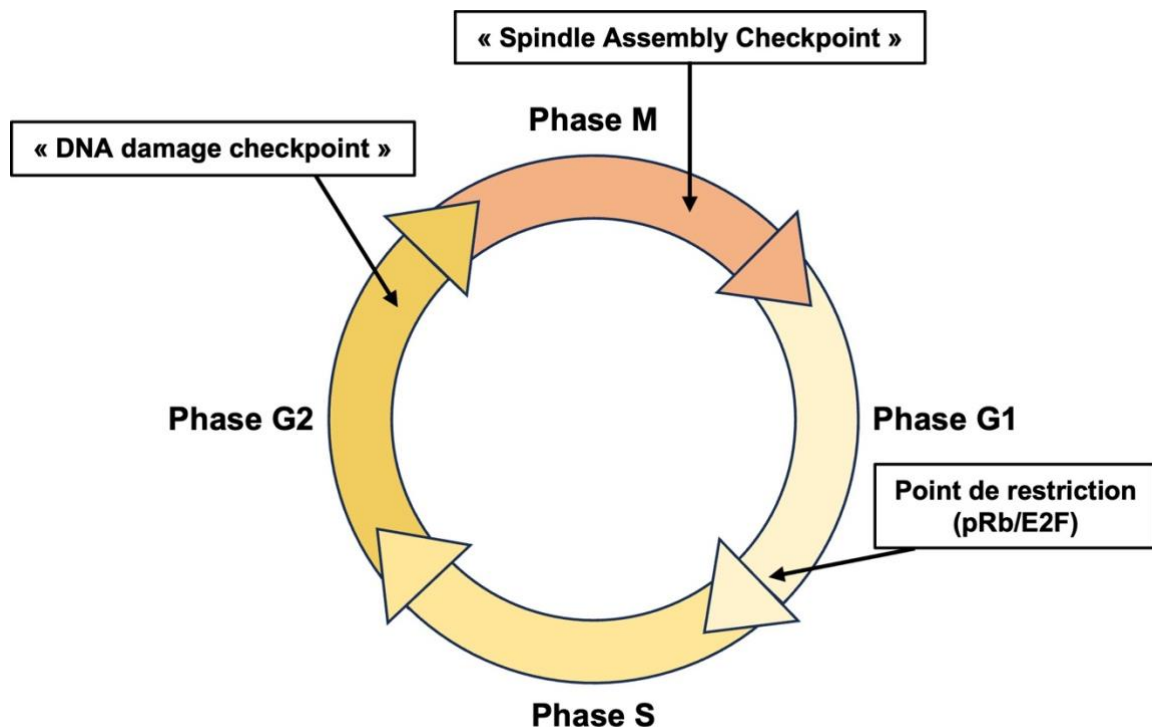


Figure 1. Les points de contrôle et de restriction du cycle cellulaire.

Le point de restriction permet l'expression de gènes codant pour des protéines nécessaires à l'entrée en phase S et à la réplication de l'ADN. Les points de contrôle sont des mécanismes de surveillance permettant de vérifier la bonne exécution de certaines étapes essentielles au déroulement du cycle cellulaire. Notamment, le « DNA damage checkpoint » vérifie l'absence d'anomalies au niveau de l'ADN. De plus, le « Spindle Assembly Checkpoint » en phase M, vérifie l'attachement des chromosomes sur le fuseau.

B. La division mitotique

Les étapes de la mitose

La mitose a lieu chez les eucaryotes et permet la multiplication des cellules. Elle a pour objectif la division d'une cellule mère diploïde en deux cellules filles diploïdes, génétiquement identiques. Elle doit répartir équitablement les chromosomes qui ont été dupliqués pendant la phase S, entre les deux cellules filles. Une erreur lors de cette division a de graves conséquences sur le destin de la cellule et peut conduire à la formation de cellules aneuploïdes. Si elle prolifère, une cellule aneuploïde peut donner une tumeur associée à un cancer. Il est donc essentiel que cette division ait lieu correctement.

Après la réplication de l'ADN, chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs qui sont liées ensemble par des complexes appelés cohésines. Ces complexes se mettent en place au moment de la réplication et sont maintenus jusqu'à la séparation des chromatides sœurs. La mitose est constituée de cinq phases. En prophase, la chromatine commence à se condenser et les chromosomes s'individualisent (Hirota et al., 2004). De plus, les centrosomes qui ont été dupliqués pendant l'interphase, se séparent pour former les pôles du futur fuseau mitotique. La prométaphase commence lors de la rupture de l'enveloppe nucléaire ou NEBD (Nuclear Envelope BreakDown). Les microtubules polymérisent à partir des centrosomes pour former le fuseau et peuvent alors entrer en contact avec les chromosomes et capturer leurs kinétochores. Cette structure protéique s'organise sur les centromères et permet l'attachement des microtubules. Les kinétochores de chaque chromatides sœurs s'attachent à des microtubules venant de pôles opposés. Les forces exercées par les microtubules de part et d'autre permettent de bi-orienter

les chromatides sœurs. Ces forces opposées s'équilibrent progressivement et permettent d'aligner les chromosomes à l'équateur du fuseau. La métaphase est atteinte quand tous les chromosomes sont alignés à l'équateur formant la plaque métaphasique. A ce stade, les chromatides sœurs sont toujours maintenues ensemble par les cohésines qui s'opposent aux forces exercées par les microtubules et empêchent une séparation prématurée des chromatides. En effet, il faut que tous les chromosomes soient correctement attachés et alignés avant que l'anaphase débute. En anaphase, suite au clivage des cohésines par une protéase nommée Séparase, les chromatides sœurs se séparent de façon synchrone et migrent vers chacun des pôles du fuseau. La mitose se termine par la télophase où les chromosomes se décondensent et l'enveloppe nucléaire se reforme autour de chacun des deux lots de chromosomes. Cette phase se termine par la cytotérièse ou cytokinèse qui permet de diviser le cytoplasme. Un anneau contractile de microfilament d'actine se forme à l'équateur et permet « d'étrangler » la cellule pour la diviser en deux. On obtient deux cellules filles identiques à la cellule d'origine, contenant exactement le même nombre de chromosomes (Richard McIntosh, 2016) (**Figure 2**).

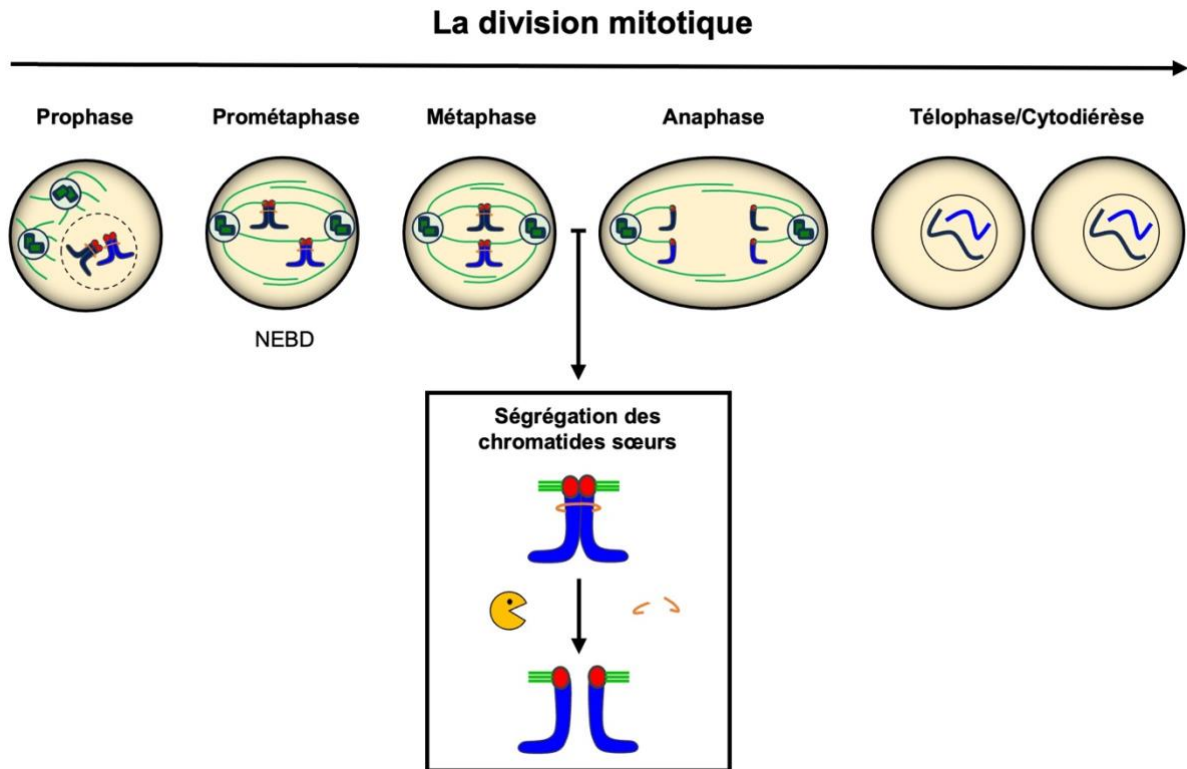


Figure 2. Les étapes de la division mitotique.

En prophase, les centrosomes se séparent et les chromosomes se condensent. Après la rupture de l'enveloppe nucléaire (NEBD), lors de la prométaphase, le fuseau s'assemble et les microtubules capturent les chromosomes au niveau de leurs kinétochores. Les chromatides sœurs se bi-orientent sur le fuseau (attachement bipolaire) et s'alignent à l'équateur en métaphase. Les chromatides sœurs se séparent et ségrègent de façon opposée en anaphase. En téléphase, les chromosomes se décondensent et l'enveloppe nucléaire se reforme. La cellule mère se divise en deux cellules filles au cours de la cytotdiérèse. La Séparase (en jaune) permet le clivage des cohésines (en orange) et la séparation des chromatides sœurs. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les kinétochores en rouge. (NEBD = Nuclear Envelope BreakDown).

La cohésion des chromosomes en mitose

En mitose, le maintien des chromatides sœurs est assuré par les cohésines, des complexes protéiques en forme d'anneau qui « encerclent » les deux molécules d'ADN. Les cohésines sont essentielles pour éviter la ségrégation aléatoire des chromosomes. Des mutations dans les gènes codant pour les sous-unités des

cohésines sont retrouvées dans certains types de cancers et sont associées à des erreurs de ségrégation des chromosomes (Barber et al., 2008).

Les cohésines sont constituées des sous-unités Smc1, Smc3, Scc1 (ou Rad21 chez l'homme et la souris) et SA. Smc1 et Smc3 (Structural Maintenance of Chromosome) sont indispensables au maintien de la structure des chromosomes. Les sous-unités Smc2 et Smc4 des condensines font partie de la même famille et jouent un rôle dans la condensation des chromosomes en début de mitose. Les SMC sont des protéines allongées et enroulées de manière antiparallèle, présentant une activité ATPase. Smc1 et Smc3 sont liées ensemble via un domaine dit « hinge » à une de leurs extrémités. L'autre extrémité dite « head » contient l'activité ATPase qui après hydrolyse de deux molécules d'ATP permet l'interaction avec la sous-unité Scc1 (Chavda et al., 2017; Peters et al., 2012). La protéine Scc1 est un α -Kleisin qui interagit par son extrémité N-terminal avec Smc1 et sa partie C-terminal avec Smc3 permettant ainsi de former un anneau tripartite (Haering et al., 2002). Une quatrième sous-unité de la cohésine nommée SA interagit avec Scc1 et permet l'interaction de protéines régulatrices : Pds5, Sororin et Wapl (De Koninck et al., 2016).

En mitose, les cohésines sont « retirées » des chromosomes en deux étapes : d'abord sur les bras des chromosomes par un mécanisme indépendant de la Séparase appelé « prophase pathway » puis au niveau des centromères par la Séparase lors de l'anaphase (**Figure 3**).

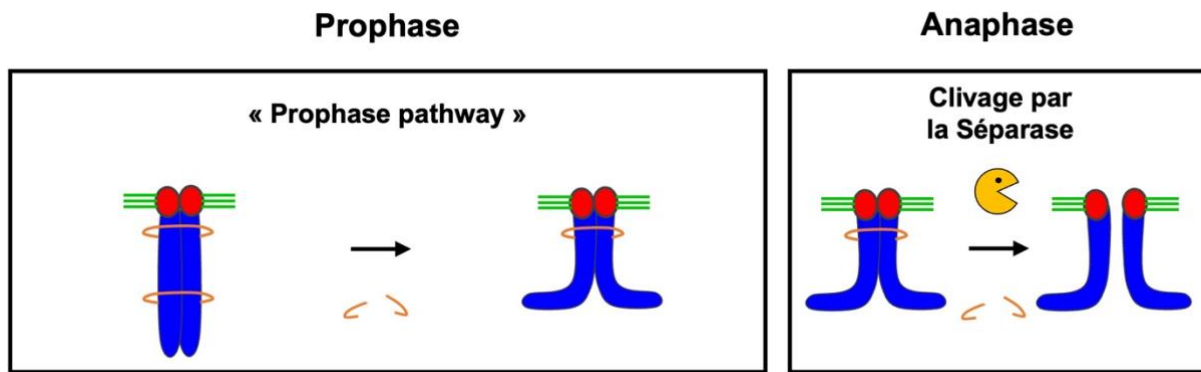


Figure 3. L'élimination des cohésines en mitose.

Lors de la mitose, les cohésines (en orange) sur les bras des chromosomes sont éliminées en prophase par le « prophase pathway ». En anaphase, la Séparase (en jaune) clive les cohésines restantes sur les centromères et permet la ségrégation des chromatides sœurs. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les kinétochores en rouge.

Le « prophase pathway » est médié par les kinases mitotiques Cdk1, Plk1 et Aurora B qui phosphorylent la Sororin et SA au niveau des bras des chromosomes (Waizenegger et al., 2000; Giménez-Abián et al., 2004). La phosphorylation de Sororin entraîne sa dissociation de Pds5, et permet l'association de Wapl à sa place, ce qui provoque l'ouverture de l'anneau (Shintomi et al., 2009; Nishiyama et al., 2010; Dreier et al., 2011). L'élimination des cohésines par le « prophase pathway » est restreinte aux bras des chromosomes car les cohésines centromériques sont protégées de ce processus et persistent jusqu'en métaphase (**Figure 4**).

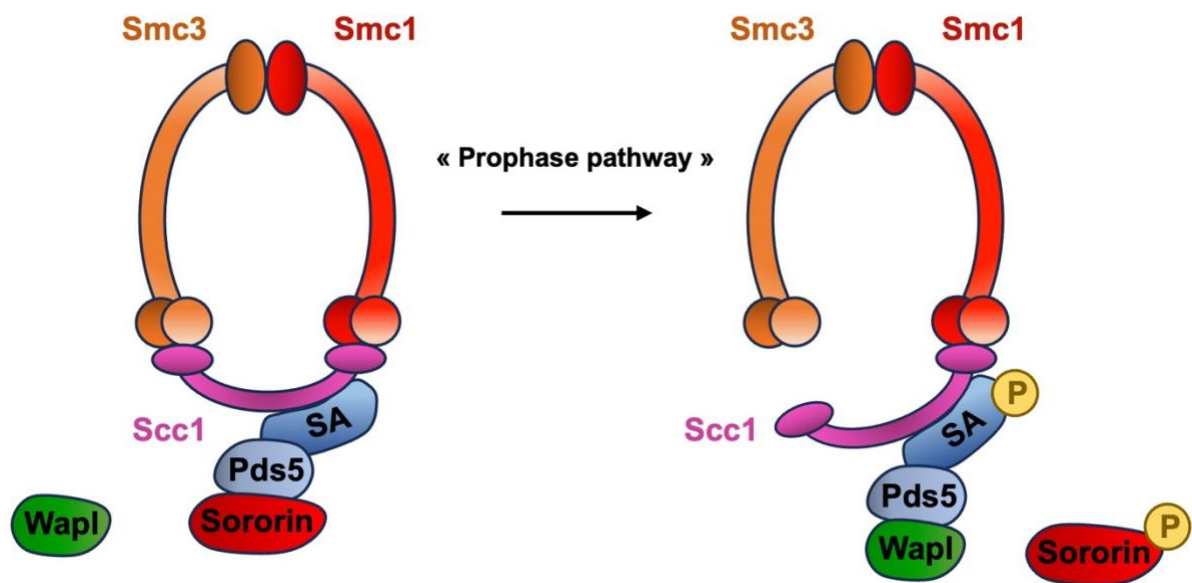


Figure 4. La dissociation des cohésines sur les bras des chromosomes en prophase.

En mitose, les cohésines sont constituées des sous-unités Smc1, Smc3, Scc1 et SA. La Sororin interagit avec la cohésine grâce à Pds5. La phosphorylation de SA et Sororin entraîne la dissociation de Sororin de Pds5, et permet l'association de Wapl à son emplacement. Cela a pour conséquence l'ouverture de l'anneau au niveau de Smc3-Scc1 et la dissociation des cohésines des bras des chromatides sœurs.

En effet, la phosphatase PP2A (Protein Phosphatase 2A), qui est recrutée au centromère par Sgo1 (Shugoshin1), s'oppose à la phosphorylation de SA et Sororin et empêche ainsi l'élimination des cohésines centromériques. La localisation de Sgo1 au centromère dépend de la phosphorylation par Bub1 de l'histone H2A sur la thréonine T120. De plus, la kinase Cdk1 phosphoryle Sgo1 sur son site T346 pour permettre sa liaison aux cohésines (Hong Liu et al., 2013). Sgo1 forme ensuite un complexe avec PP2A qui protège les cohésines centromériques durant la prophase (McGuinness et al., 2005; Watanabe et al., 2005; Kitajima et al., 2006; Xu et al., 2009; Hong Liu et al., 2013).

A la transition métaphase-anaphase, les cohésines centromériques sont retirées suite au clivage de Scc1 par la Séparase, qui permet l'ouverture de l'anneau. Avant l'anaphase, la Séparase est maintenue inactive par la Sécurine et Cdk1-Cycline B. A la transition métaphase-anaphase, l'activation de l'APC/C-Cdc20 induit la dégradation de la Sécurine et la Cycline B par le protéasome et permet ainsi l'activation de la Séparase. La Séparase clive Scc1, et libère ainsi les chromatides sœurs qui ségrégent en anaphase (Musacchio et al., 2007) (**Figure 5**).

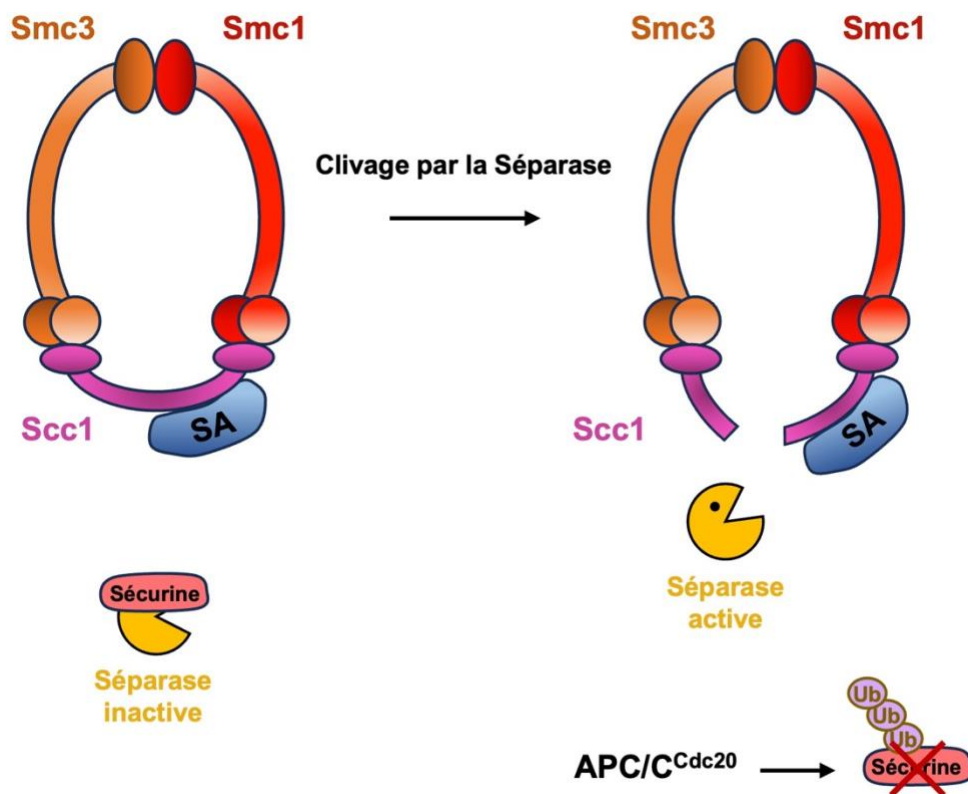


Figure 5. Le clivage des cohésines centromériques en anaphase.

Jusqu'en métaphase, la Séparase (représenté en jaune) est maintenue inhibée par la Sécurine et le complexe Cdk1-Cycline B (non représenté ici). A la transition métaphase-anaphase, l'activation de l'APC/C-Cdc20 induit la dégradation de la Sécurine et l'activation de la Séparase permettant le clivage de Scc1. Une fois l'anneau ouvert, la ségrégation des chromatides sœurs peut avoir lieu.

C. La division méiotique

Les spécificités de la méiose par rapport à la mitose

La méiose concerne uniquement les cellules de la lignée germinale et permet la production des gamètes haploïdes mâles et femelles. Ainsi, à partir d'une même cellule germinale diploïde, il est généré quatre cellules haploïdes possédant la moitié du patrimoine génétique. Pour cela, la méiose est caractérisée par deux divisions successives appelées méiose I et II, sans phase S entre les deux. Ces deux divisions sont précédées d'une seule phase S, à l'issue de laquelle chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs maintenues ensemble par les cohésines. Lors de la première division, il y a d'abord ségrégation des chromosomes homologues puis lors de la deuxième division, il y a ségrégation des chromatides sœurs. Chaque cellule fille reçoit donc une seule version de chaque chromosome (**Figure 6**).

La méiose se distingue de la mitose par plusieurs points. Premièrement, la méiose est caractérisée par un brassage génétique qui est essentiel à la diversité de l'espèce. Lors de la prophase de première division (prophase I), des cassures double brin vont induire des échanges chromosomiques (crossing-over) entre les chromosomes homologues paternel et maternel par recombinaison. Ces échanges chromosomiques augmentent les combinaisons alléliques des gamètes et induisent la formation des « chiasmas » au niveau des sites de recombinaison. Les chiasmas sont des chevauchements entre deux chromatides non sœurs qui sont stabilisés par les cohésines qui lient les chromatides sœurs. Les chiasmas permettent ainsi de maintenir les chromosomes homologues sous forme de bivalent et sont essentiels à la ségrégation correcte des chromosomes en méiose I (Ohkura, 2015).

Deuxièmement, pour ségréger les chromosomes homologues en méiose I, puis les chromatides sœurs en méiose II, les microtubules du fuseau forment des attachements différents avec les kinétochores en méiose I et en méiose II. En méiose I, les chromosomes homologues doivent être attachés à chacun des pôles du fuseau pour ségréger dans des directions opposées. En parallèle, les chromatides sœurs d'un même chromosome doivent être attachées et orientées vers le même pôle, pour ségréger dans la même direction. En méiose II, ce sont les chromatides sœurs qui doivent être attachées et orientées vers chacun des pôles pour ségréger dans des directions opposées. La régulation de ces différents types d'attachement au cours des deux divisions méiotiques constitue donc un enjeu spécifique de la méiose.

Enfin le clivage des cohésines en méiose se fait en deux temps : les cohésines sur les bras des chromosomes sont clivées en méiose I pour résoudre les chiasmas et induire la séparation des chromosomes homologues. Par contre, les cohésines centromériques sont « protégées » pour maintenir les chromatides sœurs attachées. Les cohésines centromériques sont « déprotégées » et clivées en méiose II pour séparer les chromatides sœurs. Le clivage des cohésines en méiose I et méiose II dépend de l'activité de la Séparase (Terret et al., 2003; Kudo et al., 2006) (**Figure 6**).

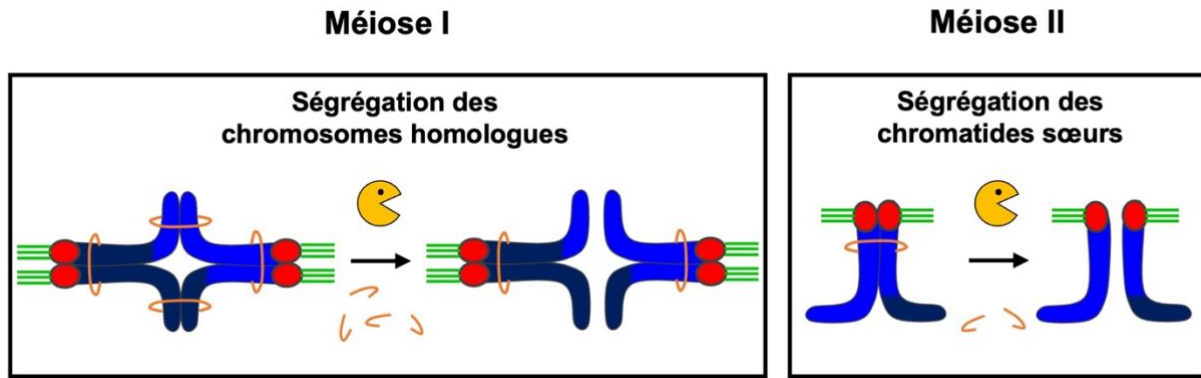


Figure 6. La ségrégation des chromosomes en méiose.

En métaphase I, les chromosomes homologues sont bi-orientés (attachement bipolaire). Les cohésines (en orange) présentes sur les bras sont clivées par la Séparase (en jaune), permettant la ségrégation des chromosomes homologues en anaphase I. En métaphase II, les chromatides sœurs se bi-orientent sur le fuseau. La Séparase clive les cohésines centromériques et permet la ségrégation des chromatides sœurs en anaphase II. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les kinétochores en rouge. Les différentes nuances de bleu sur les chromosomes représentent les échanges chromosomiques entre les chromosomes homologues.

La protection/ déprotection des cohésines en méiose

Comme en mitose, lors de la réplication pré-méiotique, des cohésines sont mises en place et maintiennent les molécules d'ADN répliquées liées ensemble. Chez les vertébrés, les cohésines méiotiques sont constituées de l' α -Kleisin mitotique Scc1 mais aussi d'une α -Kleisin spécifique de la méiose appelée Rec8. Une troisième α -Kleisin nommée Rad21L est également retrouvée lors des premiers stades de la prophase I et serait impliquée dans l'initiation des recombinaisons entre les chromosomes homologues. Chez la souris, Rec8 et Rad21L apparaissent sur les chromosomes lors de la phase S pré-méiotique (Ishiguro et al., 2011; Lee et al., 2011). Rad21L est ensuite remplacée par Scc1 qui se dissocie en fin de prophase I. La fonction de Scc1 en méiose reste à clarifier (Cheng et al., 2020). En effet, la cohésion

des chromosomes en méiose dépend principalement de Rec8 qui est localisée sur les bras et sur les centromères des chromosomes. Quand Rec8 est clivée artificiellement, les chromosomes homologues et les chromatides sœurs se séparent prématurément lors de la méiose I, montrant que Rec8 est essentielle pour la cohésion des chromosomes et des chromatides sœurs en méiose (Tachibana-Konwalski et al., 2010; Rankin, 2015) (**Figure 7**).

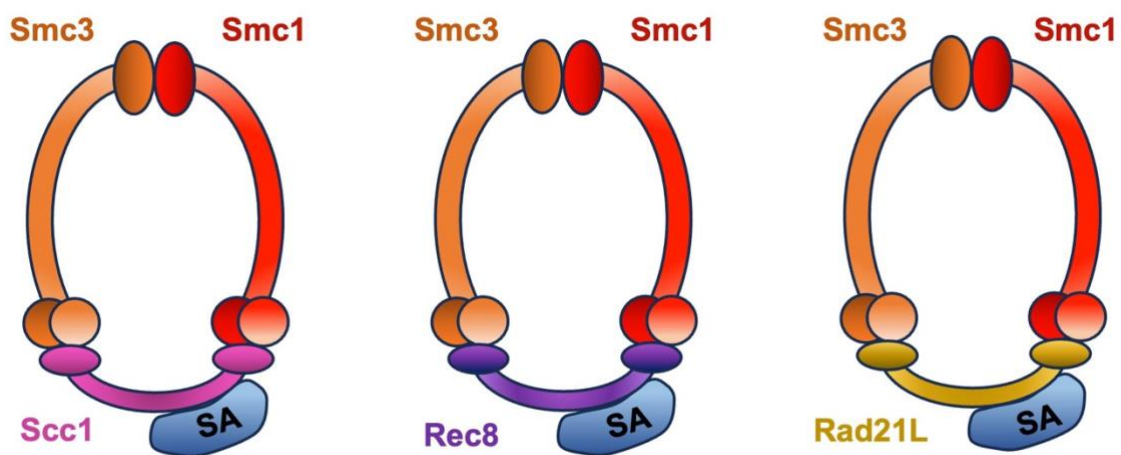


Figure 7. Représentation des différents complexes de cohésine en méiose.

En méiose, les variants Rec8 et Rad21L de Scc1 sont présents. La ségrégation des chromosomes dépend seulement de Rec8. Les autres variant de Smc1 et SA en méiose ne sont pas représentés ici.

En méiose I, seules les cohésines sur les bras sont clivées mais les cohésines centromériques doivent être protégées de la Séparase. Un défaut de protection des cohésines centromériques se traduit par une séparation prématurée des chromatides sœurs lors de l'anaphase I. Chez la levure, il a été mis en évidence que pour être clivée par la Séparase, Rec8 nécessite d'être phosphorylée par les kinases CK1 δ/ϵ (Casein Kinase 1) (ou Hrr25) et Cdc7-Dbf4 (Katis et al., 2010; Rumpf et al., 2010). Récemment chez la souris, l'équipe de Katja Wassmann a confirmé que la phosphorylation de Rec8 est également nécessaire chez les mammifères pour être

clivée par la Séparase. Ainsi, il a été montré que la kinase Aurora B/C est nécessaire pour le clivage de Rec8 et pour la séparation des chromosomes homologues lors de la méiose I dans l'ovocyte de souris (Nikalayevich et al., 2022).

Les cohésines centromériques sont protégées de l'activité de la Séparase par la phosphatase PP2A qui maintient Rec8 déphosphorylée spécifiquement sur les centromères lors de la méiose I. En effet, chez la levure, le recrutement artificiel de PP2A sur les bras chromosomiques provoque la déphosphorylation de Rec 8 et empêche la séparation des chromosomes homologues. De plus, l'inactivation de PP2A provoque la perte des cohésines centromériques lors de l'anaphase I. Ainsi, PP2A empêche le clivage de Rec8 centromérique en méiose I (Riedel et al., 2006). Chez la levure, le recrutement au centromère de la protéine PP2A est gouverné par Sgo1. Une délétion de Sgo1 entraîne une perte de PP2A au niveau du centromère et un clivage prématuré de Rec 8 centromérique en méiose I (Kitajima et al., 2006). Ainsi, chez la levure, Sgo1 et PP2A sont essentielles pour la protection des cohésines centromériques en méiose I.

Chez les mammifères, c'est la protéine Sgo2 (Shugoshin2) qui recrute PP2A au centromère et est nécessaire pour protéger Rec8 centromérique (Lee et al., 2008; Rattani et al., 2013; Kitajima et al., 2006) (**Figure 8**). La localisation de Sgo2 dans l'ovocyte de souris dépend de l'activité des kinases Mps1 et Bub1. En effet, Sgo2 se localise au niveau de deux régions : 1) au niveau du centromère de façon dépendante de Mps1 et 2) au niveau du péri-centromère de façon dépendante de Bub1. Seule la population de Sgo2 au niveau du centromère est requise pour la protection des cohésines centromériques car bloquer l'activité de Bub1 n'interfère pas avec la séparation des chromatides sœurs (El Yakoubi et al., 2017).

Méiose I

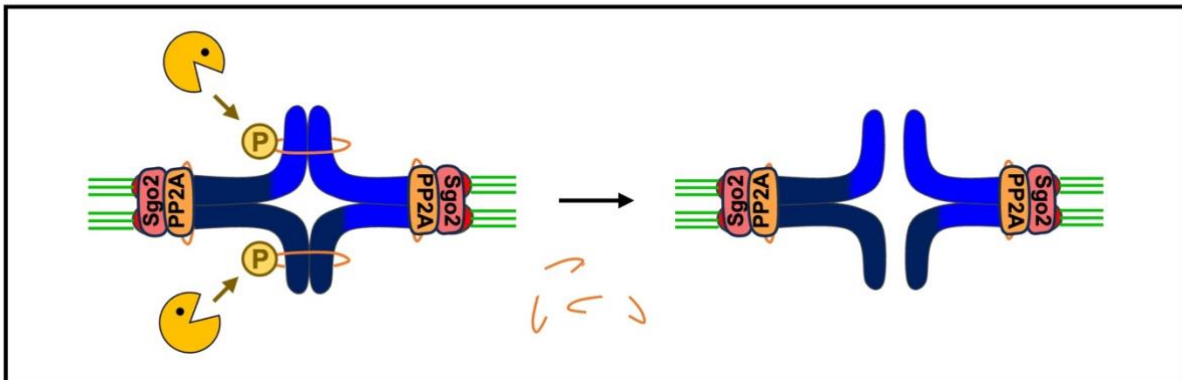


Figure 8. La protection des cohésines centromériques en méiose I.

En méiose, le clivage des cohésines (en orange) par la Séparase (en jaune) nécessite la phosphorylation de la sous-unité Rec8. En méiose I, seule Rec8 présente sur les bras des chromosomes est phosphorylée puis clivée par la Séparase. Au contraire, Rec8 centromérique est protégé de la Séparase par la phosphatase PP2A qui est recrutée sur les centromères par Sgo2. De ce fait, en méiose I, les cohésines centromériques ne peuvent pas être clivées et maintiennent les chromatides sœurs attachées lors de l'anaphase I. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les kinétochores en rouge. Les différentes nuances de bleu sur les chromosomes représentent les échanges chromosomiques entre les chromosomes homologues.

Contrairement au mécanisme de protection, le mécanisme de déprotection des cohésines centromériques en méiose II est plus flou. Une hypothèse est que l'attachement bipolaire des chromatides sœurs permettrait l'éloignement des deux kinétochores frères et ainsi l'éloignement de Sgo2-PP2A des cohésines centromériques. Les cohésines centromériques seraient alors démasquées et pourraient être phosphorylées, puis clivées par la Séparase (Gómez et al., 2007). Cependant, une étude récente dans l'équipe a montré que l'éloignement des deux kinétochores n'est pas nécessaire pour la séparation des chromatides sœurs lors de la méiose II (Gryaznova et al., 2021). En effet, diminuer chimiquement la tension entre les kinétochores en méiose II n'empêche pas la séparation des chromatides sœurs indiquant que les cohésines sont correctement déprotégées et clivées par la Séparase

(Gryaznova et al., 2021). En revanche, il a récemment été montré que l'activité de la Séparase en méiose I est nécessaire pour la future déprotection des cohésines centromériques en méiose II (Gryaznova et al., 2021). Ainsi l'activité de la Séparase en Méiose I, permet d'une part de séparer les chromosomes homologues mais aussi d'individualiser les kinétochores frères qui restent liés ensemble par les cohésines centromériques. L'individualisation des kinétochores en anaphase I serait un prérequis pour la déprotection et le clivage des cohésines centromériques en méiose II.

Une autre hypothèse est que l'inhibiteur de PP2A, I2PP2A (ou SET) permettrait la déprotection des cohésines en empêchant la déphosphorylation de Rec8 par PP2A. En effet, l'injection d'un morpholino contre I2PP2A dans l'ovocyte de souris empêche la séparation des chromatides sœurs pendant la méiose II (Chambon et al., 2013). Une étude est actuellement en cours dans l'équipe pour confirmer le rôle de I2PP2A dans la déprotection des cohésines en méiose II.

La Cycline A2 pourrait également intervenir mais son mode d'action n'est pas connu. En effet, il a été montré que la surexpression de la Cycline A2 en méiose I induit une séparation prématurée des chromatides sœurs. De plus, l'inhibition de la Cycline A2 par des anticorps en méiose II empêche la ségrégation des chromatides sœurs. Ces résultats indiquent que la Cycline A2 qui est localisée au kinétochore est nécessaire pour la séparation des chromatides sœurs lors de la méiose II (Touati et al., 2012; Wassmann, 2013).

II. La formation de l'ovocyte de mammifère

A. L'ovogénèse et la folliculogénèse

L'ovogénèse permet de produire un ovocyte mature fécondable. Chez les mammifères, l'ovogénèse commence très tôt, au moment de l'embryogénèse et se termine chez l'adulte lorsque l'organisme atteint sa maturité sexuelle (Wear et al., 2016).

Dans l'embryon, les cellules germinales primordiales ou PGC (Primordial Germ Cells) présentes au niveau de l'épiblaste postérieur proximal sont les précurseurs des gamètes mâles et femelles. Elles restent indifférenciées pendant les premières semaines du développement puis migrent pour coloniser les crêtes génitales, correspondant aux gonades primitives qui se différencieront par la suite en ovaires ou en testicules (McLaren, 2003). Dans les ovaires, les PGC deviennent les ovogonies et se multiplient par mitose. Après une dernière phase S, les ovogonies entrent en méiose puis s'arrêtent en prophase I pour former l'ovocyte I. Les ovocytes I vont s'entourer de cellules folliculaires pour former les follicules primordiaux. Les cellules folliculaires ont un rôle de protection et régulent la croissance et la maturation de l'ovocyte (Piotrowska et al., 2013; McGee et al., 2000).

La folliculogénèse correspond au développement du follicule primordial en un follicule mature prêt à expulser son ovocyte lors de l'ovulation. Pendant cette étape, les cellules folliculaires qui entourent l'ovocyte I se multiplient pour former la granulosa, et une cavité appelée antrum apparaît et se développe progressivement. On peut distinguer les follicules pré-antraux caractérisés par une augmentation du nombre de cellules folliculaires autour de l'ovocyte et la mise en place de la zone pellucide. La

formation des follicules pré-antraux se produit par vague pendant tout le cycle ovarien, indépendamment des hormones gonadotrophines. Par la suite, les follicules pré-antraux évoluent en follicules antraux dans lesquels l'antrum apparaît dans la granulosa. Sous l'influence de la *FSH* (Follicle Stimulating Hormone), à chaque début de cycle ovarien, quelques follicules antraux entrent en croissance terminale mais un seul (dans les espèces mono-ovulatoire comme la femme) deviendra un follicule pré-ovulatoire ou follicule de Graaf (Piotrowska et al., 2013; Zheng et al., 2023). Le follicule de Graaf atteint sa taille maximale d'environ deux centimètres chez la femme et devient le follicule le plus compétent à répondre à la *LH* (Luteinizing Hormone).

En parallèle du développement du follicule, l'ovocyte arrêté en prophase I subit une étape de croissance ovocytaire pendant laquelle il accumule des ARN maternels et des réserves nécessaires pour la suite de sa maturation, et pour les premières étapes du développement après la fécondation. Il atteint une taille d'environ 150 µm chez la femme et 80-100 µm chez la souris. C'est pendant cette étape que l'ovocyte I acquiert la compétence méiotique qui lui permettra de poursuivre sa maturation sous l'influence de la LH. En effet, avant l'ovulation, un pic de LH induit l'ovocyte à reprendre la méiose jusqu'à la métaphase II, et induit l'ovulation, c'est-à-dire l'expulsion de l'ovocyte II du follicule de Graaf (Viveiros et al., 2019). À chaque cycle ovarien, un seul ovocyte chez les espèces mono-ovulatoires (ou plusieurs chez les espèces poly-ovulatoires) va poursuivre la méiose jusqu'en métaphase II et être ovulé.

Chez les mammifères, le stock d'ovocytes est prédéfini à la naissance. À la naissance, les ovaires contiennent un nombre important de follicules primordiaux. Pourtant, seul 1% de ce « stock » arrivera à l'ovulation car la majorité des follicules dégénère progressivement par atresie (Hunt et al., 2008). Au contraire, la spermatogénèse permet une production continue de spermatozoïdes à partir de la

maturité sexuelle et tout au long de la vie. En effet, la présence des cellules souches spermatogoniales dans les testicules permet un auto-renouvellement du stock de cellules souches et une différenciation de ces cellules en spermatozoïde tout au long de la vie adulte (Culty, 2009; Fayomi et al., 2018).

B. L'arrêt en prophase I et la reprise de la méiose

Chez les mammifères, les ovocytes entrent en méiose et s'arrêtent en prophase I avant la naissance. La prophase I est divisée en plusieurs stades : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacytène. Au stade leptotène, les chromatides sœurs commencent à se condenser. Le stade zygotène correspond à la mise en place du complexe synaptonémal qui permet l'appariement des chromosomes homologues sur toute leur longueur. Au stade pachytène, les recombinaisons ont lieu entre les chromosomes homologues paternels et maternels, induisant des échanges chromosomiques et la formation des chiasmas. Au stade diplotène le complexe synaptonémal se dissocie et les chromosomes homologues restent attachés par les chiasmas. Les ovocytes s'arrêtent au stade diplotène et sont reconnaissables par la présence de la vésicule germinative ou GV (Germinal Vesicle), contenant l'ensemble des chromosomes.

Cet arrêt en prophase I est maintenu tant que l'activité de Cdk1 qui est nécessaire pour la progression de la méiose, reste à un niveau faible. Ainsi, l'inhibition de Cdk1 est médiée par PKA (Protéine Kinase A) qui active Wee1/Myt1, les kinases inhibitrices de Cdk1, et inhibe Cdc25, la phosphatase activatrice de Cdk1 (Pirino et al.,

2009). L'activité de PKA est régulée par le taux d'AMPc (Adénosine-Monophosphate cyclique) produit par l'AC (Adénylate Cyclase) à partir d'ATP au niveau de la membrane de l'ovocyte. En laboratoire, l'utilisation *in vitro* du dbcAMP (dibutyryl cAMP) en tant qu'analogue de l'AMPc, permet de maintenir les ovocytes arrêtés en prophase I (Cho et al., 1974). Les cellules folliculaires autour de l'ovocyte sont responsables du « signal » permettant de maintenir l'ovocyte arrêté en prophase I (Norris et al., 2009). En effet, *in vitro*, la séparation des cellules folliculaires de l'ovocyte provoque spontanément la reprise de la méiose (Masciarelli et al., 2004). Les cellules folliculaires produisent du GMPc (Guanosine-Monophosphate cyclique) à partir du GTP et le transfert à l'ovocyte (Eppig, 1991; Sela-Abramovich et al., 2008) via des jonctions communicantes. L'injection de GMPc dans l'ovocyte retarde la reprise de la méiose (Tornell et al., 1990). En effet, dans l'ovocyte, le GMPc inhibe PDE3A (Phosphodiesterase 3A) qui est responsable de l'hydrolyse de l'AMPc. Ainsi, le GMPc maintient l'AMPc (Hambleton et al., 2005) à un niveau élevé dans l'ovocyte. L'AMPc active la PKA qui favorise l'inactivation de Cdk1, et maintient l'ovocyte arrêté en prophase I (**Figure 9**).

A la maturité sexuelle, l'augmentation brutale de la concentration de LH à chaque cycle ovarien, active la voie des MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) qui entraîne la phosphorylation de la connexine 43 dans les cellules folliculaires. Cela a pour conséquence la fermeture des jonctions communicantes entre les cellules folliculaires et l'ovocyte (Norris et al., 2008; Fan et al., 2009). Il n'y a donc plus d'entrée de GMPc et l'activité de PDE3A augmente. Ainsi, le taux d'AMPc diminue dans l'ovocyte (Norris et al., 2009) et aboutit à l'inactivation de PKA, l'activation de Cdc25

et donc l'activation de Cdk1 (Solc et al., 2010) qui permet la reprise de la méiose dans l'ovocyte.

En plus de l'inhibition de Cdk1 par PKA, l'arrêt en prophase I est assuré par la dégradation continue de la Cycline B qui contribue à maintenir l'activité de Cdk1 à un niveau faible. En effet, en prophase I, l'APC/C-Cdh1 est responsable de la dégradation continue de la Cycline B suite à son ubiquitination (Adhikari et al., 2014). L'augmentation brutale de *LH* avant l'ovulation, entraîne l'inhibition de l'APC/C-Cdh1 par Emi1, permettant l'accumulation de la Cycline B nécessaire à l'activation de Cdk1 (Marangos et al., 2007; Tung et al., 2005) (**Figure 9**).

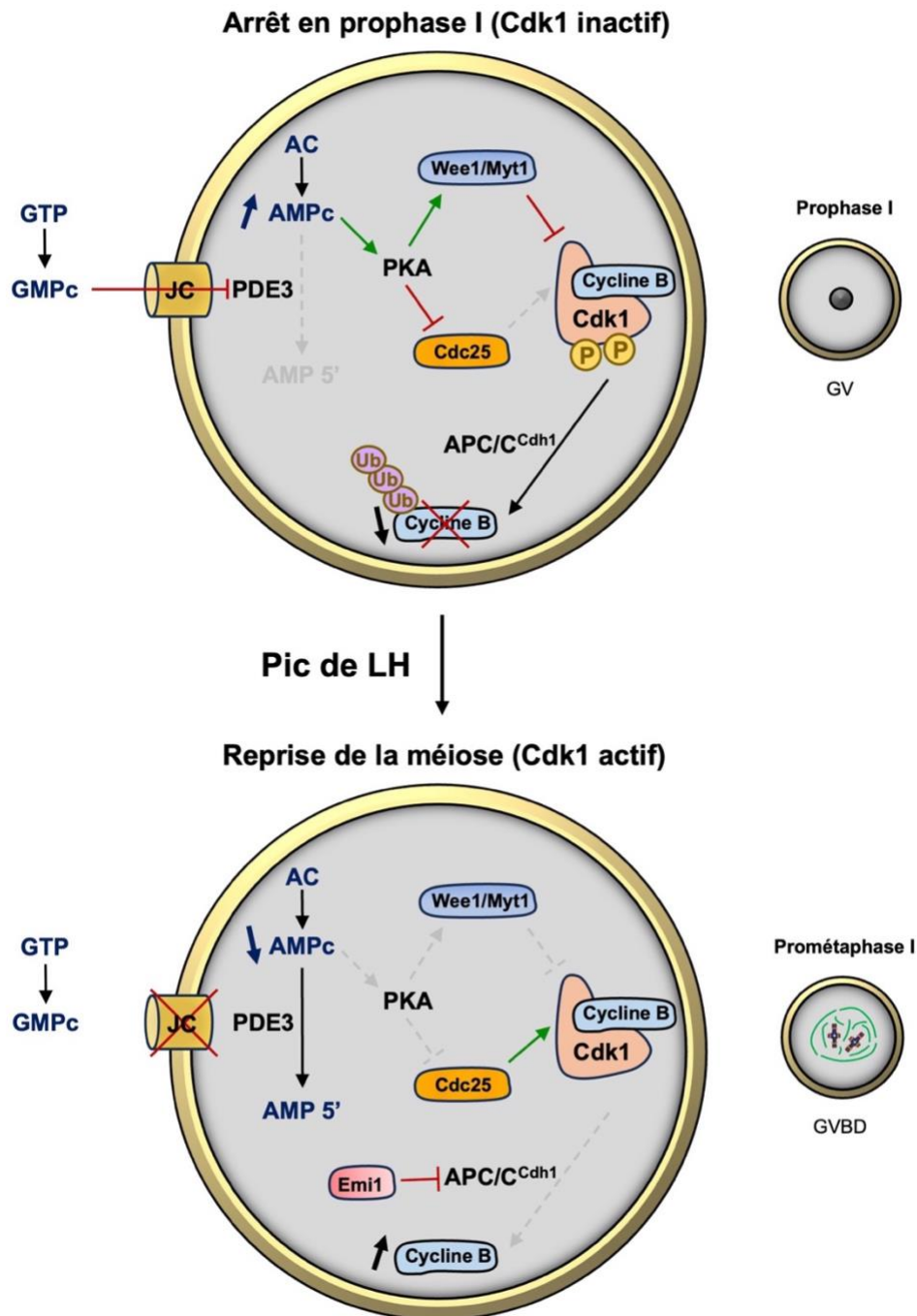


Figure 9. L'arrêt en prophase I et la reprise de la méiose.

L'arrêt en prophase I est maintenu tant que l'activité de Cdk1 reste à un niveau faible. Les cellules folliculaires autour de l'ovocyte produisent du GMPc qui entre dans l'ovocyte par les jonctions communicantes et maintient l'AMPc élevé dans l'ovocyte. L'AMPc active PKA et permet l'inactivation de Cdk1 par Wee/Myt1. En parallèle, l'APC/C dégrade continuellement la Cycline B. A la maturité sexuelle, le pic de LH provoque la fermeture des jonctions communicantes, entraînant une chute du niveau d'AMPc. Cela aboutit à l'inactivation de PKA, l'activation de Cdc25 et donc l'activation de Cdk1. En parallèle, Emi1 inhibe l'APC/C et permet l'accumulation de la Cycline B. Ainsi, la méiose peut reprendre dans l'ovocyte. (GVBD : Germinal Vesicle Breakdown).

C. La maturation méiotique

Comme énoncé dans le paragraphe précédent, l'augmentation de LH qui précède l'ovulation, induit à la fois l'inhibition de l'APC/C-Cdh1 qui permet l'accumulation de la Cycline B, et une chute du taux d'AMPc qui permet l'activation de Cdk1-Cycline B. L'activation de Cdk1-Cycline B provoque la phosphorylation de nombreuses protéines induisant la reprise de la méiose.

La reprise de la méiose est marquée par la rupture de la vésicule germinale ou GVBD (Germinal Vesicle BreakDown) qui est facilement visualisable *in vitro*. Après GVBD, les chromosomes se condensent, le fuseau méiotique se forme et les microtubules s'attachent aux chromosomes au niveau de leurs kinétochores. Les chromosomes homologues s'attachent avec des microtubules du fuseau de façon opposée (attachement bipolaire) alors que les chromatides sœurs d'un même chromosome sont attachées vers le même pôle (attachement monopolaire). La biorientation des chromosomes homologues permet leur alignement à l'équateur du fuseau en métaphase I. Tant que les chiasmas sont maintenus et résistent aux forces de traction exercées par les microtubules, une tension est générée le long des bivalents (**Figure 10**).

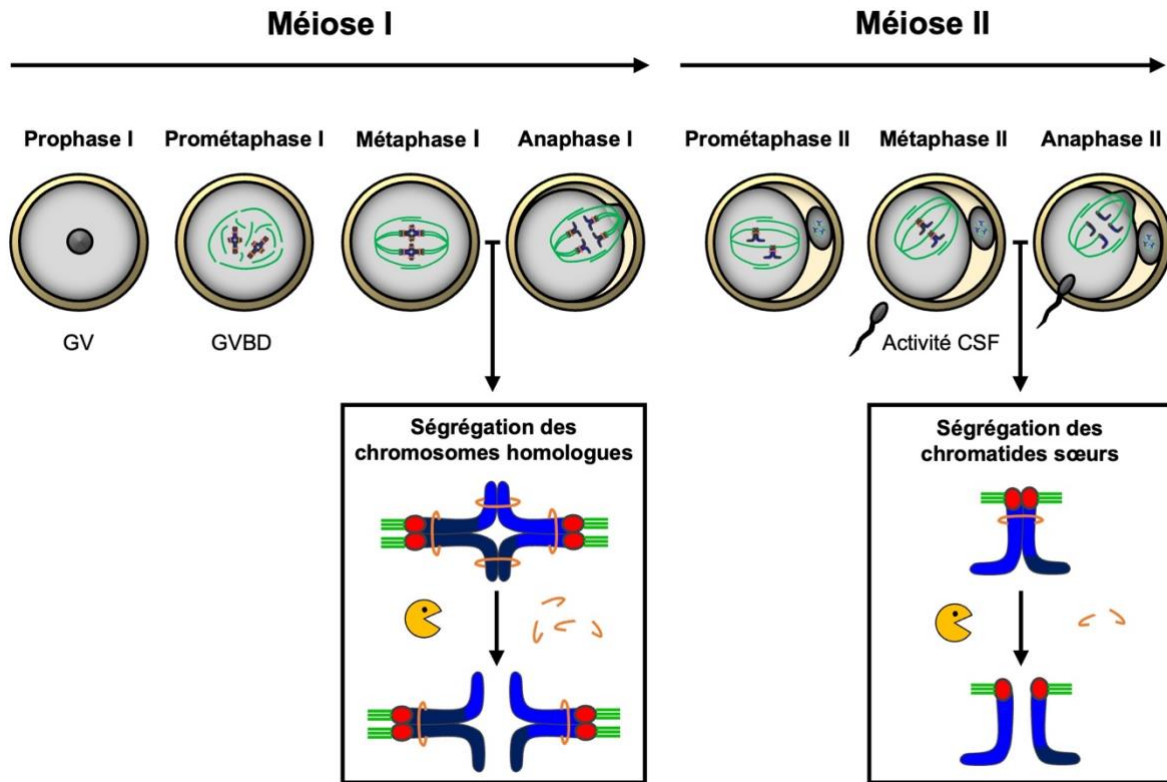


Figure 10. La maturation méiotique dans l'ovocyte de souris.

Dans les ovocytes de mammifère, la méiose est caractérisée par un arrêt en prophase I (ou GV : Germinal Vesicle). Suite au pic de LH, l'enveloppe nucléaire se rompt (GVBD) et l'ovocyte progresse en prométaphase I. Les chromosomes homologues se bi-orientent et s'alignent à l'équateur du fuseau (attachement bipolaire) en métaphase I et ségrègent de façon opposée en anaphase I, suite au clivage des cohésines sur les bras des chromosomes par la Séparase (en jaune). Après l'expulsion d'un 1er globule polaire, l'ovocyte progresse en méiose II. En prométaphase II, les chromatides sœurs se bi-orientent sur le fuseau puis l'ovocyte s'arrête en métaphase II avec les chromosomes alignés. Cet arrêt, dû à l'activité CSF (Cytostatic Factor), est maintenu jusqu'à la fécondation. L'entrée du spermatozoïde induit le clivage des cohésines centromériques par la Séparase, la ségrégation des chromatides sœurs de façon opposée en anaphase II et l'expulsion d'un 2e globule polaire. La Séparase (en jaune) permet le clivage des cohésines (en orange) en méiose I et en méiose II. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les kinétochores en rouge. Les différentes nuances de bleu sur les chromosomes représentent les échanges chromosomiques entre les chromosomes homologues. (GVBD : Germinale Vesicle Breakdown).

A la transition métaphase-anaphase I, l'activation de l'APC/C-Cdc20 provoque l'ubiquitination puis la dégradation de la Sécurine et de la Cycline B qui maintenaient la Séparase inactive. L'activation de la Séparase induit le clivage des cohésines sur

les bras des chromosomes permettant la résolution des chiasmats. Les chromosomes homologues se séparent et ségrégent de façon opposée lors de l'anaphase I (Kudo et al., 2006; Terret et al., 2003) (**Figure 11**).

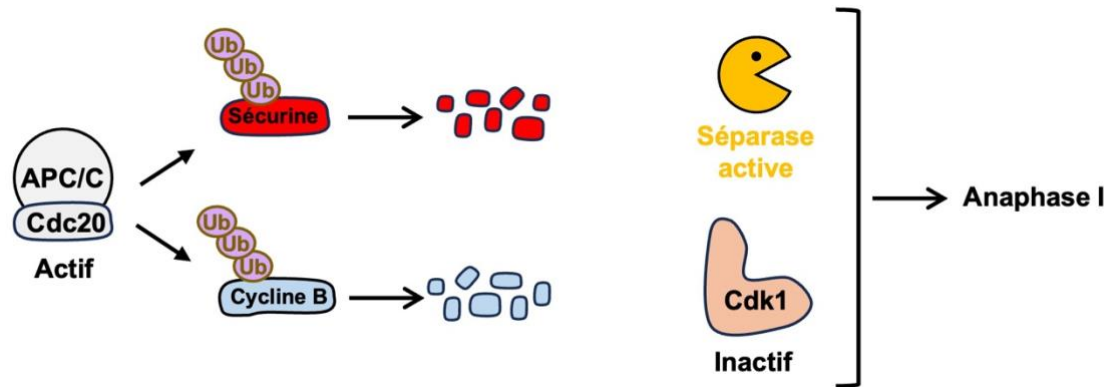


Figure 11. L'entrée en anaphase I.

L'activation de l'APC/C-Cdc20 permet l'ubiquitination de la Sécurine et la Cycline B entraînant leurs dégradations. En absence d'inhibition, la Séparase devient active et clive la cohésine pour permettre l'entrée en anaphase I.

La méiose I dans l'ovocyte est une division asymétrique qui donne une cellule de grande taille (l'ovocyte) et un globule polaire de petite taille. L'expulsion d'un petit globule polaire permet d'éliminer la moitié des chromosomes tout en maintenant l'ensemble des réserves dans l'ovocyte. Le réseau de filament d'actine et la myosine II régulent la position du fuseau dans l'ovocyte en guidant le fuseau du centre vers le cortex de l'ovocyte (Chaigne et al., 2017 ;Almonacid et al., 2018).

La dégradation de la Cycline B induit une chute de l'activité de Cdk1 qui permet de sortir de la méiose I (Terret et al., 2003). La réaccumulation de la Cycline B permet de réactiver rapidement Cdk1 et d'entrer en méiose II. Le fuseau de méiose II s'assemble et les chromatides sœurs s'attachent de façon bipolaire puis s'alignent à l'équateur du fuseau lors de la métaphase II.

D. L'arrêt en métaphase II et la fécondation

Les ovocytes de vertébrés sont caractérisés par un arrêt en métaphase II qui est levé par l'entrée du spermatozoïde lors de la fécondation. Cet arrêt est dû à l'activité CSF (CytoStatic Factor) qui maintient l'activité de Cdk1-Cycline B à un niveau élevé. L'activité CSF est médiée par Emi2 (Early mitotic inhibitor 2) qui inhibe l'APC/C-Cdc20 pour empêcher l'ubiquitination puis la dégradation de la Cycline B et de la Sécurine (Shoji et al., 2006). Cela empêche l'activation de la Séparase nécessaire à la séparation des chromatides sœurs, et l'inactivation de Cdk1 nécessaire à la sortie de la méiose II. De plus, l'activité de la phosphatase Cdc25A maintient le complexe Cdk1-Cycline B actif en déphosphorylant Cdk1 (Oh et al., 2013).

L'entrée du spermatozoïde s'accompagne d'une augmentation de calcium dans l'ovocyte qui provoque l'activation de la kinase CamKII (Calmodulin-dependant protein Kinase II) (Rauh et al., 2005; Lorca et al., 1993). CamKII phosphoryle et active Wee1B induisant l'inhibition de Cdk1 (Oh et al., 2010; Sanders et al., 2018). En parallèle, CamKII phosphoryle Emi2 et permet la liaison de Plk1. La phosphorylation de Emi2 par Plk1 permet son ubiquitination par le SCF et sa dégradation (Rauh et al., 2005). La dégradation de Emi2 permet l'activation de l'APC/C entraînant la dégradation de la Cycline B et de la Sécurine. Ainsi, la fécondation aboutit à l'inactivation de Cdk1 et à l'activation de la Séparase qui clivent les cohésines centromériques et permet la ségrégation des chromatides sœurs (Peters, 2002). Un deuxième globule polaire est expulsé et à l'issue de la méiose II, le zygote contient deux pronoyaux, mâle et femelle, qui fusionnent ensuite lors de la première division mitotique lorsque les enveloppes nucléaires se rompent (**Figure 12**).

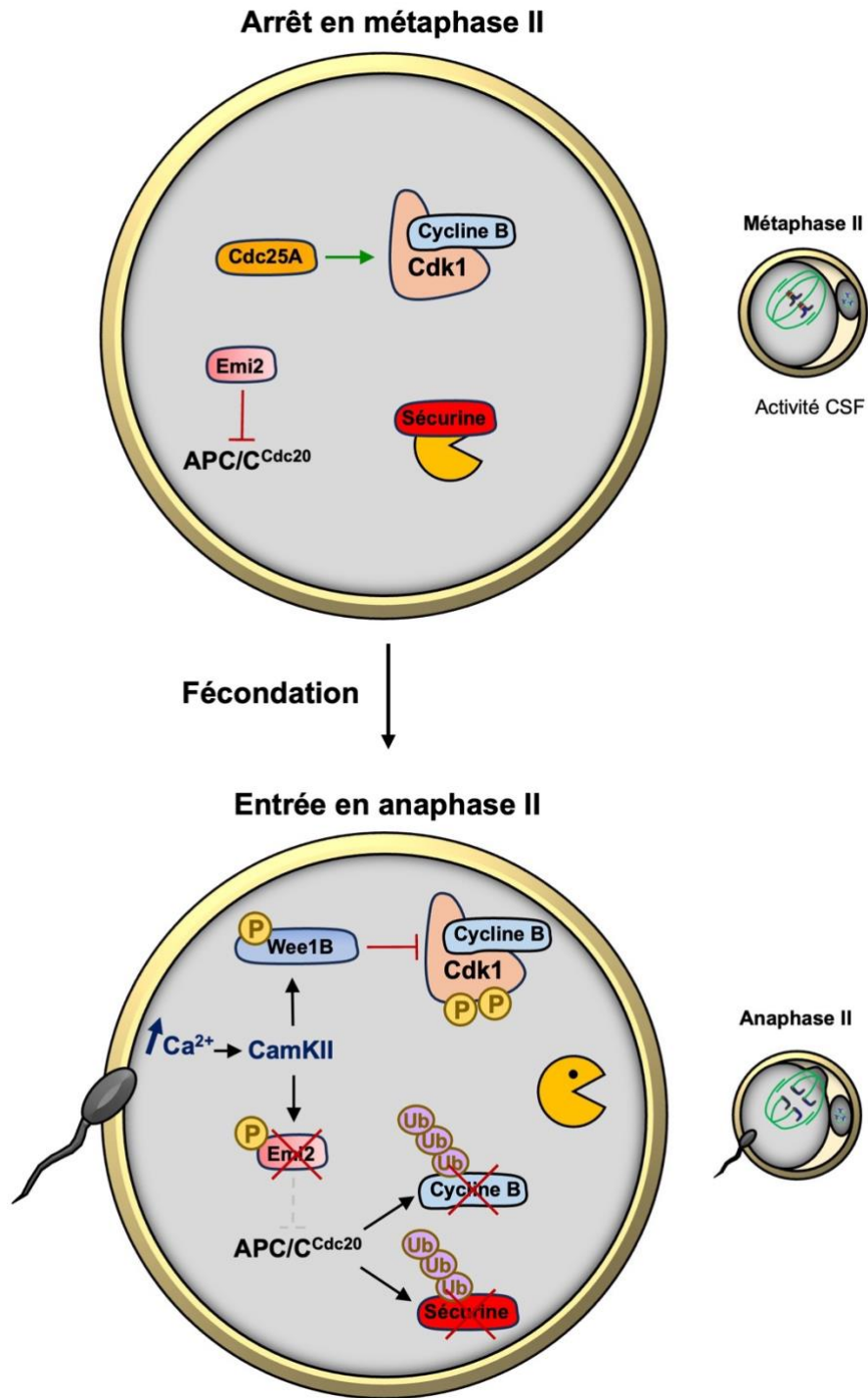


Figure 12. L'arrêt en métaphase II et la fécondation.

L'arrêt en métaphase II est dû au maintien de l'activité de Cdk1 et à l'inhibition de la Séparase. Pour cela, Cdc25A déphosphoryle Cdk1 pour la maintenir active et Emi2 inhibe l'APC/C-Cdc20 pour empêcher la dégradation de la Cycline B et de la Sécurine. La fécondation provoque une augmentation du calcium (Ca^{2+}) et permet l'activation de la kinase CamKII. CamKII phosphoryle et active Wee1B induisant l'inhibition de Cdk1. En parallèle, Emi2 est dégradée et l'APC/C-Cdc20 entraîne la dégradation de la Cycline B et de la Sécurine. La Séparase clive les cohésines centromériques et permet la ségrégation des chromatides sœurs.

E. Les erreurs de ségrégation dans l'ovocyte

Les erreurs de ségrégation des chromosomes en méiose conduit à la formation de gamètes aneuploïdes et au développement d'embryons trisomiques ou monosomiques après la fécondation. De plus, la plupart des trisomies et des monosomies étant non viables, les erreurs de ségrégation en méiose sont responsables de fausses couches et de problèmes de fertilité (Kuliev et al., 2011). Or, la méiose femelle est particulièrement sujette aux erreurs. Chez l'être humain, la majorité des trisomies est issue d'erreurs de ségrégation ayant lieu dans l'ovocyte. Par exemple, 93% des trisomies 21 sont dues à des erreurs dans la méiose femelle (Hassold et al., 2001). De plus, le risque d'erreur dans les ovocytes augmente avec l'âge maternel. Chez les femmes d'une trentaine d'année, 10 à 25% des ovocytes sont aneuploïdes alors que chez les femmes de plus de 40 ans, environ 50% des ovocytes sont aneuploïdes. Après l'âge de 42 ans, plus de la moitié des grossesses est associée à une mort fœtale (Nybo Andersen et al., 2000). De nombreuses hypothèses peuvent expliquer la fréquence des erreurs dans l'ovocyte et reposent sur des particularités de la méiose femelle.

Contrairement aux spermatozoïdes qui sont produits de façon continue, le stock d'ovocytes est prédéfini avant la naissance et diminue progressivement au cours de la vie sans pouvoir se renouveler. De plus, ce stock d'ovocytes est arrêté en prophase I jusqu'à l'ovulation, et parfois pendant des dizaines d'année chez la femme. Ainsi, la qualité des ovocytes présents dans l'ovaire depuis la naissance diminue avec le temps et augmente le risque d'erreurs (Wang et al., 2023). Par exemple, les cohésines sont mises en place avant la naissance et ne sont pas renouvelées. Or, il a été montré que la stabilité des cohésines diminue avec le temps (Jones, 2008). En effet, dans les

ovocytes de souris âgées, le niveau de Rec8 associée aux chromosomes est diminué (Chiang et al., 2010). La perte progressive des cohésines fragilise la cohésion des chromosomes homologues et pourrait contribuer aux erreurs de ségrégation (Tachibana-Konwalski et al., 2010).

D'autres facteurs diminuent au cours du temps comme Sgo2 dont la perte induit un défaut de protection des cohésines centromériques en méiose I (Lister et al., 2010). En effet, dans les ovocytes de souris âgées, une séparation précoce des chromatides sœurs est souvent observée (Lin Liu et al., 2008). Certaines protéines essentielles au fonctionnement du SAC, telles que Mad2, Bub1 ou BubR1, diminuent également dans les ovocytes de souris âgées et affaibliraient la régulation de la transition métaphase-anaphase (Simon Lane et al., 2019; Yun et al., 2014; Lagirand-Cantaloube et al., 2017; Nabti et al., 2017). Des problèmes dans la structure du fuseau et dans l'attachement des chromosomes ont aussi été rapportés dans les ovocytes de femme et de souris âgées (Thomas et al., 2021). Ces observations suggèrent que l'affaiblissement de différents mécanismes de régulation pourrait rendre l'ovocyte plus permissif aux erreurs.

La taille importante de l'ovocyte pourrait également contribuer aux erreurs dans l'ovocyte. Un ovocyte humain mesure 100-120 μm et un ovocyte de souris, 80-100 μm . Il a été montré que plus le volume du cytoplasme est grand, plus le nombre d'erreurs de ségrégation augmente. En effet, une étude a montré que quand le volume du cytoplasme est divisé par deux après prélèvement avec une micropipette, les pôles du fuseau sont mieux focalisés et le SAC est plus efficace. Une hypothèse est que les inhibiteurs de l'anaphase sont plus dilués dans un cytoplasme de taille importante (Kyogoku et al., 2017).

Dans les ovocytes de mammifères, l'assemblage du fuseau fait intervenir des voies alternatives à cause de l'absence de centrosome, et nécessite de ce fait, des niveaux de régulation supplémentaires (Bennabi et al., 2016; Kwon et al., 2008; Breuer et al., 2010) (le processus d'assemblage du fuseau sera traité dans le chapitre III de ce manuscrit).

Une autre particularité de la méiose femelle est l'asymétrie des deux divisions qui donne un ovocyte et deux globules polaires. Ces deux divisions asymétriques dépendent entre-autre du réseau d'actine et de la myosine II qui vont permettre l'ancrage du fuseau méiotique au cortex de l'ovocyte. Ces processus font donc intervenir des niveaux de régulation supplémentaires par rapport à la méiose mâle pouvant contribuer aux erreurs dans l'ovocyte (Azoury et al., 2009; Chaigne et al., 2013).

III. La formation du fuseau bipolaire

A. Généralité sur le fuseau

L'alignement et la ségrégation des chromosomes pendant la mitose et la méiose dépendent de la formation d'une structure bipolaire symétrique appelé fuseau. Cette structure est composée de microtubules, tubes d'environ 25 nm de diamètre, constitués de 13 protofilaments d'hétérodimères α/β -tubuline. Le fuseau est composé de trois catégories de microtubules : 1) les microtubules kinétochoriens qui se lient aux kinétochores des chromosomes, 2) les microtubules polaires qui se chevauchent de façon antiparallèle et maintiennent la bipolarité du fuseau, 3) les microtubules astraux qui interagissent avec le cortex de la cellule.

Le centrosome ou MTOC (Microtubule Organizing Center) est le site principal de la « nucléation » des microtubules. Le centrosome est constitué de deux centrioles correspondant à deux cylindres orthogonaux formés de triplets de microtubules. Le centrosome est entouré par une matrice péricentriolaire ou PCM (Pericentriolar Material) qui contient notamment les γ -TuRC (γ -Tubulin Ring Complex) permettant d'initier la nucléation des microtubules. Les microtubules possèdent une extrémité (-) qui est stabilisée par les γ -TuRC au niveau du centrosome et une extrémité (+) dynamique qui parcourt le cytoplasme (Dumont et al., 2012). En G1, la cellule possède un centrosome unique qui est dupliqué pendant la phase S sous le contrôle de la protéine PLK4 (Polo-Like Kinase 4) en coopération avec Cdk2. Au début de la mitose, les deux centrosomes se séparent pour former les pôles du fuseau mitotique (Azimzadeh et al., 2007; Habedanck et al., 2005).

Un autre mécanisme permet de promouvoir la nucléation des microtubules à proximité des chromosomes. Ce mécanisme repose sur le gradient de Ran-GTP qui s'établit autour des chromosomes grâce à RCC1. En effet, RCC1 (Regulator of Chromosome Condensation 1) est un Ran-GEF (Ran Guanine nucleotide Exchange Factor) localisé sur la chromatine, qui permet d'échanger le GDP en GTP et favorise la formation de Ran-GTP autour des chromosomes. Le Ran-GTP régule le transport nucléaire des protéines par l'Importine. En se liant sur l'Importine, le Ran-GTP permet la libération des protéines importées (Gruss et al., 2001; Nachury et al., 2001). Cela libère notamment, des facteurs favorisant l'assemblage du fuseau ou SAF (Spindle Assembly Factors). Parmi ces facteurs, TPX2 (Targeting Protein for Xklp2) stimule localement la polymérisation des microtubules (Gruss et al., 2004). Le Ran-GTP permet aussi de recruter localement la γ -Tubuline et l'Augmin. L'Augmin, dont l'activité en mitose est régulée par les kinases Aurora A et Plk1, permet le « branchement » et la nucléation de nouveaux microtubules à partir de microtubules déjà existants (Tsai et al., 2011; Johmura et al., 2011; Kraus et al., 2023). Le gradient de Ran-GTP favorise ainsi la nucléation de nouveaux microtubules près des chromosomes (**Figure 13**).

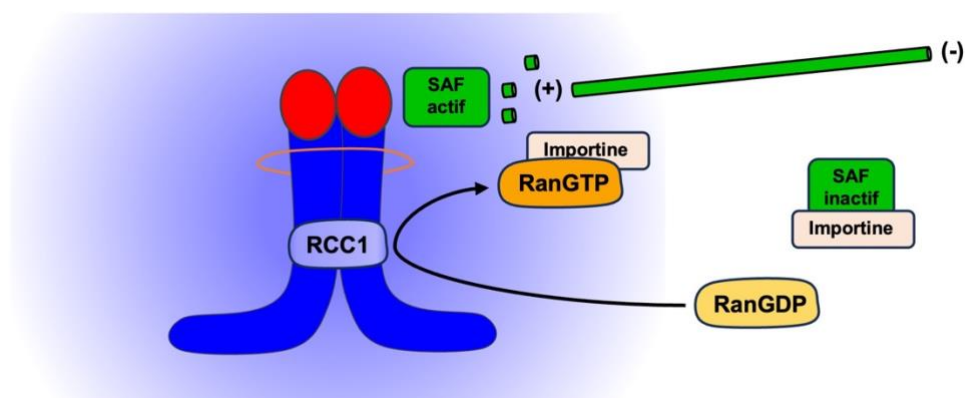


Figure 13. Nucléation des microtubules à partir du gradient de RanGTP.

Le gradient de RanGTP est établi par RCC1 au niveau de la chromatine et permet de convertir le Ran-GDP en Ran-GTP. Le Ran-GTP en se liant à l'Importine à proximité des chromosomes permet de libérer les SAF (Spindle Assembly Factors). Les SAF libérés permettent la stimulation de la polymérisation et la nucléation des microtubules à proximité des chromosomes.

L'organisation des microtubules dans le fuseau et la bipolarisation du fuseau impliquent des moteurs moléculaires qui interagissent avec les microtubules et se déplacent vers une extrémité. Par exemple, la séparation des centrosomes fait intervenir la protéine motrice tétramérique Eg5 (Kinésine-5 ou KIF11) qui se lie à des microtubules antiparallèles se chevauchant. En se déplaçant vers les extrémités (+), Eg5 permet de faire glisser deux microtubules antiparallèles l'un par rapport à l'autre et permet ainsi de séparer les deux centrosomes (Prigent et al., 2022). Eg5 maintient ainsi la bipolarité du fuseau. Les forces séparant les pôles générés par Eg5 sont contrebalancées par la Kinésine-14 qui au contraire, permet le rapprochement des pôles en glissant vers l'extrémité (-) de deux microtubules antiparallèles (Heald et al., 2015). La Dynéine se déplace vers l'extrémité (-) des microtubules et en complexe avec NuMa, elle contribue à rassembler les extrémité (-) et à les focaliser aux pôles (Silk et al., 2009; Kolano et al., 2012) (**Figure 14**).

B. Le modèle amélioré de recherche et capture en mitose

Le modèle « search and capture » suggéré en 1986 par Kirschner et Mitchison décrit l'hypothèse selon laquelle les microtubules polymérisent de façon dynamique dans différentes directions et parcourent le cytoplasme aléatoirement à la recherche des kinétochores des chromosomes. Les microtubules seraient stabilisés en entrant en contact avec un kinétochore (Kirschner et al., 1986). Cependant, il a été montré que la dynamique des microtubules n'était pas suffisante pour expliquer la vitesse de capture des kinétochores. En effet, le temps nécessaire pour que tous les kinétochores soit capturés par les microtubules a été estimé par un modèle mathématique. Cette modélisation a montré que le simple modèle de « search and capture » nécessiterait

un temps largement supérieur à la durée de la mitose pour capturer tous les chromosomes. Par conséquent, d'autres facteurs permettent de faciliter la capture des kinétochores (Wollman et al., 2005; Heald et al., 2015).

En effet, le Ran-GTP augmente la polymérisation des microtubules qui s'approchent des chromosomes et permettrait de guider préférentiellement les microtubules vers les chromosomes afin de favoriser la capture des kinétochores (Gruss et al., 2004). Par ailleurs, la capture des kinétochores est favorisée par leur interaction latérale avec les microtubules. Ce processus est médié par la Dynéine et la kinésine CENP-E (Kinésine-7) qui s'associent avec les kinétochores et transportent les chromosomes vers les pôles et l'équateur du fuseau respectivement (Monda et al., 2018; Shrestha et al., 2013). La dynéine permet de « ramener » vers les pôles du fuseau les chromosomes situés en périphérie de la cellule en les déplaçant sur les microtubules astraux (Zhenye Yang et al., 2007). CENP-E permet de transporter les chromosomes des pôles vers les extrémités (+) et est nécessaire pour l'alignement des chromosomes à l'équateur du fuseau (Legal et al., 2020). La perte de CENP-E provoque un détachement prématuré des microtubules latéraux mais pas des extrémités des microtubules (Shrestha et al., 2013). Les Chromokinésines (Kinésines 4 et 10) qui interagissent avec les bras des chromosomes contribuent également à déplacer les chromosomes vers les extrémités (+). Ainsi, CENP-E coopèrent avec les Dynéines et les Chromokinésines pour rassembler les chromosomes vers l'équateur du fuseau et favoriser la capture des kinétochores (Craske et al., 2020; Wandke et al., 2012; Kalinina et al., 2013) (**Figure 14**).

L'interaction latérale d'un kinétochore avec la surface d'un microtubule via CENP-E est ensuite remplacée par une interaction du kinétochore avec l'extrémité (+) du microtubule. Ceci est médié par MCAK dont l'activité dépolymérisante libère les

microtubules attachés latéralement. En effet, un appauvrissement en MCAK empêche d'éliminer le contact latéral avec les microtubules. Ainsi, MCAK permettrait la conversion finale de l'attachement du kinétochore avec l'extrémité des microtubules (Shrestha et al., 2013; McHugh et al., 2023). De plus, Aurora B située principalement au niveau des centromères, permettrait de stabiliser localement les microtubules en inhibant des facteurs déstabilisant les microtubules tel que MCAK et OP18. Cela permettrait de générer un environnement local autour du kinétochore propice à l'assemblage des microtubules (Meunier et al., 2016).

De plus, l'interaction entre les protéines du kinétochore et l'extrémité des microtubules est plus stable que l'interaction avec la surface latérale, favorisant ainsi la conversion des attachements latéraux vers les extrémités (Doodhi et al., 2021). Ainsi, le modèle « search and capture » est facilité par le gradient Ran-GTP et les moteurs qui ensemble favorise la rencontre entre les microtubules et les kinétochores.

C. L'assemblage autonome du fuseau dans les ovocytes

Dans la plupart des espèces, l'ovocyte est caractérisé par une absence de centrosome. Par conséquent, l'ovocyte doit adopter une autre stratégie pour assembler le fuseau de manière autonome (Dumont et al., 2012; Bennabi et al., 2016). Une stratégie utilisée par l'ovocyte est la nucléation des microtubules à partir du gradient de Ran-GTP autour des chromosomes. Pour rappel, le Ran-GTP favorise la nucléation de nouveaux microtubules autour des chromosomes. Dans les ovocytes humains, le Ran-GTP est essentiel en méiose I pour la formation du fuseau (Holubcová et al., 2015). Dans des extraits d'ovocytes de xénope, le fuseau peut s'assembler en

absence du gradient Ran-GTP mais nécessite une activité locale de la kinase Aurora B au kinétochore (Maresca, Groen, et al., 2009). Une étude récente dans les ovocytes de xénope a montré que le fuseau s'assemble principalement par la nucléation de microtubules issus de ramification dépendant de Augmin et Tpx2 (Gouveia et al., 2023). L'Augmin participerait aussi à la formation du fuseau dans l'ovocyte de drosophile en initiant la formation de nouveaux microtubules à partir de microtubules déjà existants au niveau des pôles (Colombié et al., 2013).

Dans l'ovocyte de souris, le gradient de Ran-GTP n'est pas essentiel en méiose I. En effet, un niveau réduit ou excessif de Ran-GTP impacte peu la ségrégation des chromosomes homologues en méiose I (Dumont et al., 2007). Dans l'ovocyte de souris, l'absence de centrosome est compensée par la présence de centres organisateurs des microtubules non-centriolaires ou aMTOC (acentriolar MicroTubule Organizing Center). Les aMTOC sont constitués exclusivement du matériel péricentriolaire. Malgré l'absence de centriole, ils peuvent induire la nucléation des microtubules grâce à la présence des γ -TuRC. En prométaphase I, après la rupture de l'enveloppe nucléaire, environ 80 aMTOC se rassemblent au centre de l'ovocyte et induisent la polymérisation des microtubules dans toutes les directions. Ils forment une « sphère » de microtubules entourée de l'ensemble des chromosomes. Puis, les aMTOC se rassemblent en deux lots qui se séparent pour former les deux pôles du fuseau. Le regroupement des aMTOC fait intervenir la Dynéine et la Kinésine-14 qui rapprochent les aMTOC et les transportent vers les pôles du fuseau (Schuh et al., 2007). En parallèle, la kinésine Eg5 éloigne les deux pôles. Dans l'ovocyte de souris, la protéine HURP est recrutée par Eg5 au niveau de la région centrale du fuseau et stabilise les microtubules qui se chevauchent dans cette région contribuant à la bipolarisation du fuseau (Breuer et al., 2010; Bennabi et al., 2016). Le complexe

Dynéine-NuMa est requis pour la focalisation des pôles dans les ovocytes humains et murins (Sedó et al., 2011; Kolano et al., 2012a). Une déficience de NuMa dans l'ovocyte de souris entraîne une perte de la connexion entre les microtubules et les pôles du fuseau (Kolano et al., 2012a) (**Figure 14**).

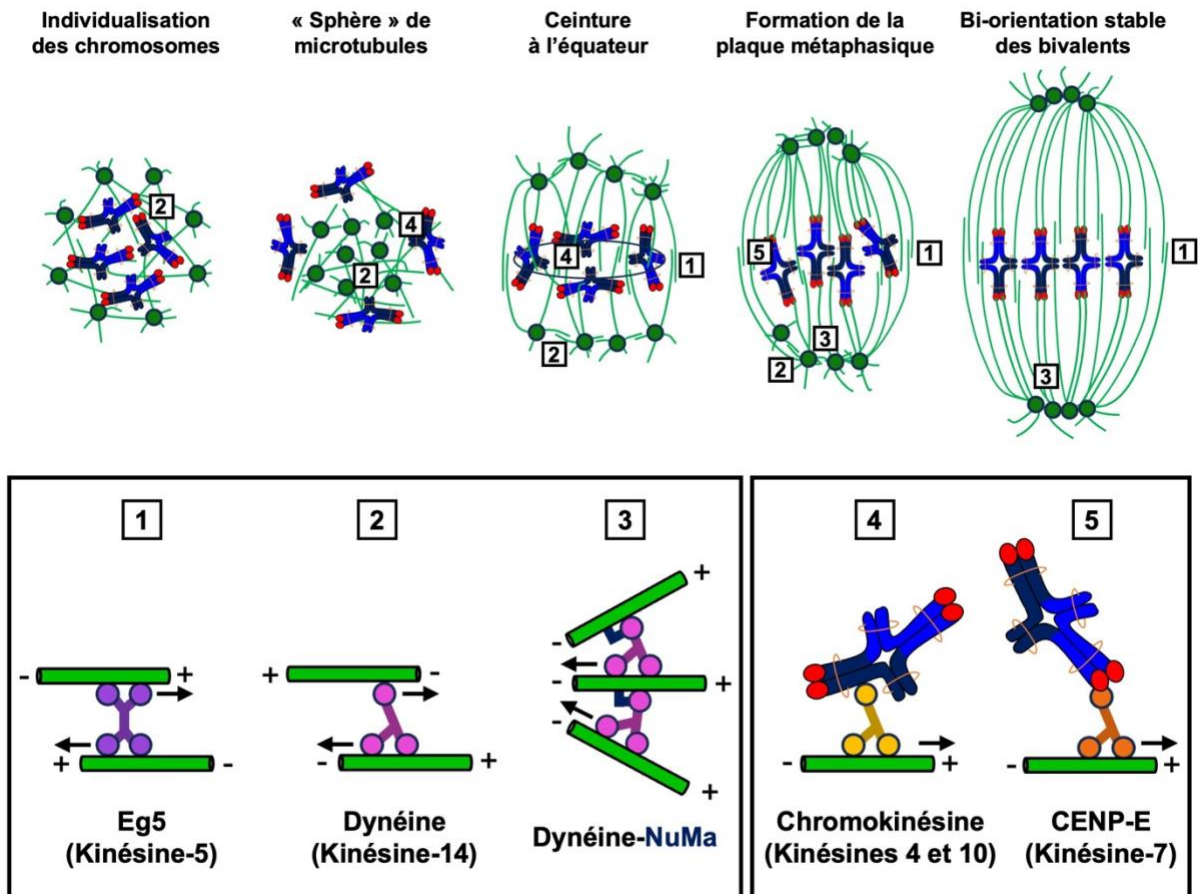


Figure 14. L'assemblage autonome du fuseau dans l'ovocyte de souris.

La nucléation des microtubules est initiée à partir des aMTOC. Les aMTOC forment une « sphère » de microtubules entourée de l'ensemble des chromosomes. Puis ils se rassemblent pour former deux lots qui se séparent pour devenir les deux pôles du fuseau. Les chromosomes vont ensuite progressivement s'aligner sur la plaque métaphasique. Les attachements sont stabilisés jusqu'à ce que les chromosomes soient correctement bi-orientés. **(1, 2 et 3)** Représentation des moteurs moléculaires permettant de faire glisser les microtubules les uns par rapport aux autres. **(4 et 5)** Représentation des moteurs moléculaires interagissant avec les chromosomes. Les flèches noires indiquent la direction des moteurs moléculaires.

La formation du fuseau en méiose II est moins connue. Par exemple, il n'est pas connu si les aMTOC sont dissociés entre la méiose I et II, et s'ils interviennent également en méiose II pour la reformation du fuseau. Contrairement à la méiose I, l'absence de gradient Ran-GTP semble impacter plus sévèrement la formation du fuseau lors de la méiose II (Dumont et al., 2007). La formation du fuseau en méiose II reposerait donc davantage sur la nucléation des microtubules à proximité des chromosomes. Par ailleurs, le fuseau s'assemble plus rapidement en méiose II (2h) qu'en méiose I (4h) dans l'ovocyte de souris. Après la méiose I, les chromosomes restent regroupés et ne forment pas une ceinture à l'équateur comme en méiose I, ce qui faciliterait leur capture par les microtubules (Kouznetsova et al., 2019).

IV. Coordination entre l'attachement des chromosomes et l'anaphase

A. L'interaction kinétochore-microtubule

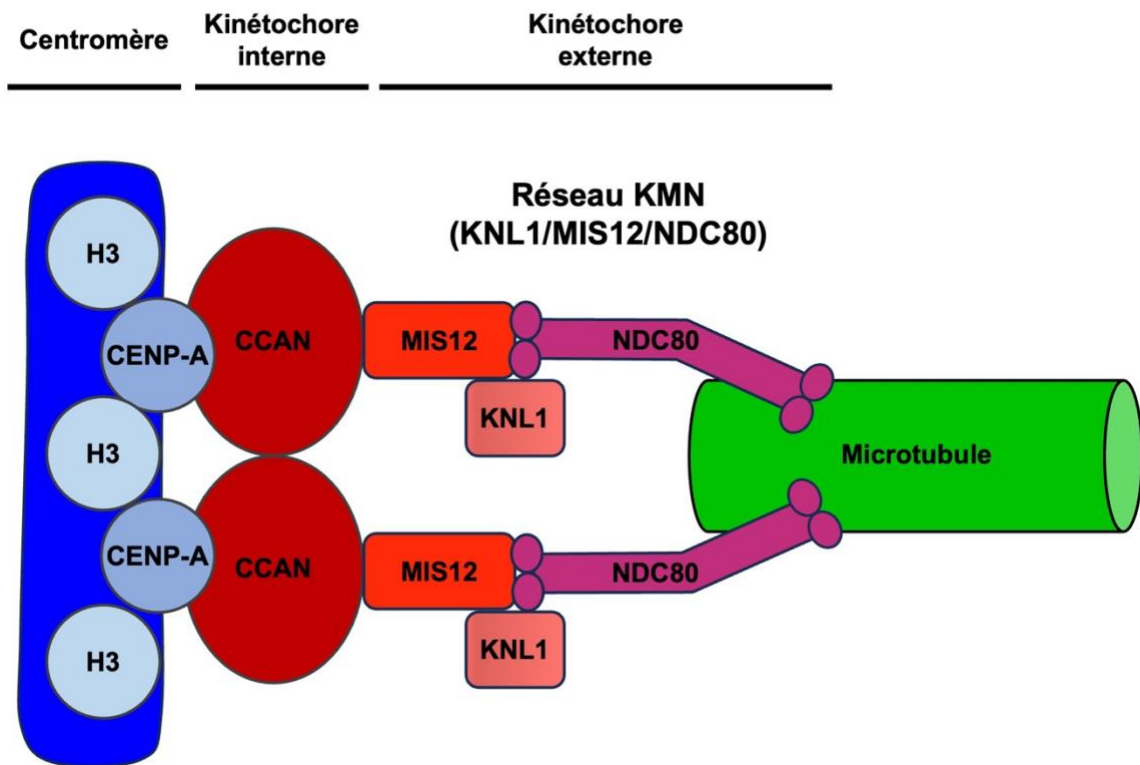
Les kinétochores permettent l'attachement des chromosomes avec les microtubules et sont donc essentiels pour l'alignement et la ségrégation des chromosomes (Cheeseman et al., 2008). Ils permettent également de recruter les composants du mécanisme qui corrige les attachements incorrects (voir partie B.) ainsi que les composants du SAC qui contrôle l'entrée en anaphase (voir partie C.).

Les kinétochores sont des complexes protéiques composés de plus de 80 protéines conservées dans plusieurs espèces, qui s'assemblent au niveau du centromère des chromosomes. Le centromère est une région particulière de l'ADN, composé d'une multitude de séquences répétées appelées ADN satellite. Dans la majorité des eucaryotes, les centromères sont caractérisés par la présence de nucléosomes contenant CENP-A, un variant de l'histone H3. Le kinétochore est constitué d'une plaque interne et d'une plaque externe séparées par une « interzone » (McAinsh et al., 2011).

CENP-A permet le recrutement des protéines de la plaque interne, composée de plusieurs protéines CENP telles que CENP-B, CENP-C et CENP-N, qui forment un réseau appelé CCAN (Constitutive Centromere-Associated Network) (Carroll et al., 2009). Le CCAN est toujours présent sur le centromère quel que soit la phase du cycle cellulaire et permet le recrutement des protéines de la plaque externe qui forment le réseau KMN (McAinsh et al., 2011; Hara et al., 2017). Le KMN est constitué de trois complexes conservés chez tous les eucaryotes (KNL1/MIS12/NDC80) et est essentiel

pour l'interaction entre les microtubules et le kinétochore (Cheeseman et al., 2006). Le complexe MIS12 relie les plaques interne et externe du kinétochore en reliant le CCAN et les complexes KNL1 et NDC80. Le complexe NDC80 joue un rôle crucial dans l'interaction entre les microtubules et le kinétochore. NDC80 est un complexe protéique constitué de Spc24, Spc25, Nuf2 et Hec1 (nommé également Ndc80). D'un côté, Spc24 et Spc25 s'associent à MIS12 qui est liée à la plaque interne et de l'autre côté, à Nuf2 et Hec1 qui interagissent avec l'extrémité des microtubules (Wimbish et al., 2020; Wei et al., 2007). Le domaine CH de Hec1 se lie à l'interface entre deux hétérodimères d' α/β -tubuline et le domaine CH de Nuf2 stabilise cette interaction (Wilson-Kubalek et al., 2008). Il y a environ une dizaine de complexes NDC80 par microtubule (Musacchio et al., 2017) (**Figure 15**).

A



B

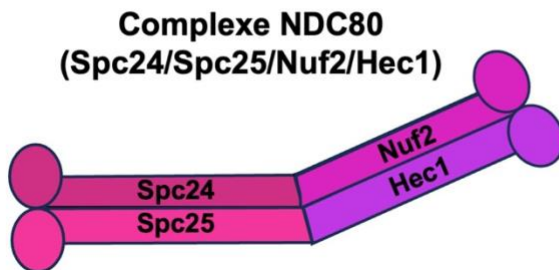


Figure 15. Structure des kinétochores chez les eucaryotes.

(A) Des nucléosomes contenant CENP-A sont présents au niveau des centromères et permettent le recrutement des protéines du kinétochore interne constitué du réseau CCAN. Le CCAN permet le recrutement des protéines du kinétochore externe constitué du réseau KMN. Le KMN est composé des complexes KNL1, MIS12 et NDC80. NDC80 permet l'interaction entre les microtubules et le kinétochore. **(B)** Le complexe NDC80 est constitué de Spc24, Spc25, Nuf2 et Hec1. Les protéines Nuf2 et Hec1 interagissent avec l'extrémité (+) des microtubules.

B. La correction des erreurs d'attachements

Les erreurs d'attachements

L'attachement kinétochore-microtubule (KT-MT) est essentiel à la ségrégation correcte des chromosomes. En mitose et en méiose II, les attachements corrects dits « amphitéliques » correspondent à l'attachement bipolaire des chromatides sœurs où les kinétochores frères sont attachés à des pôles opposés. En méiose I, les attachements corrects correspondent à l'attachement bipolaire des chromosomes homologues : cette fois-ci les kinétochores frères sont attachés au même pôle mais chaque paire de kinétochores frères est attachée à un pôle opposé (**Figure 16**).

En mitose comme en méiose, les attachements KT-MT ne sont pas corrects tout de suite. On distingue différents types d'attachements incorrects. On parle d'attachement dit « syntélique » lorsque les deux paires de kinétochores frères en méiose I, ou les deux kinétochores frère en mitose et en méiose II, sont attachés au même pôle. Les attachements sont dits « mérotélique » quand les deux kinétochores frères en méiose I, ou un même kinétochore en mitose et méiose II, sont attachés à des pôles opposés (**Figure 16**).

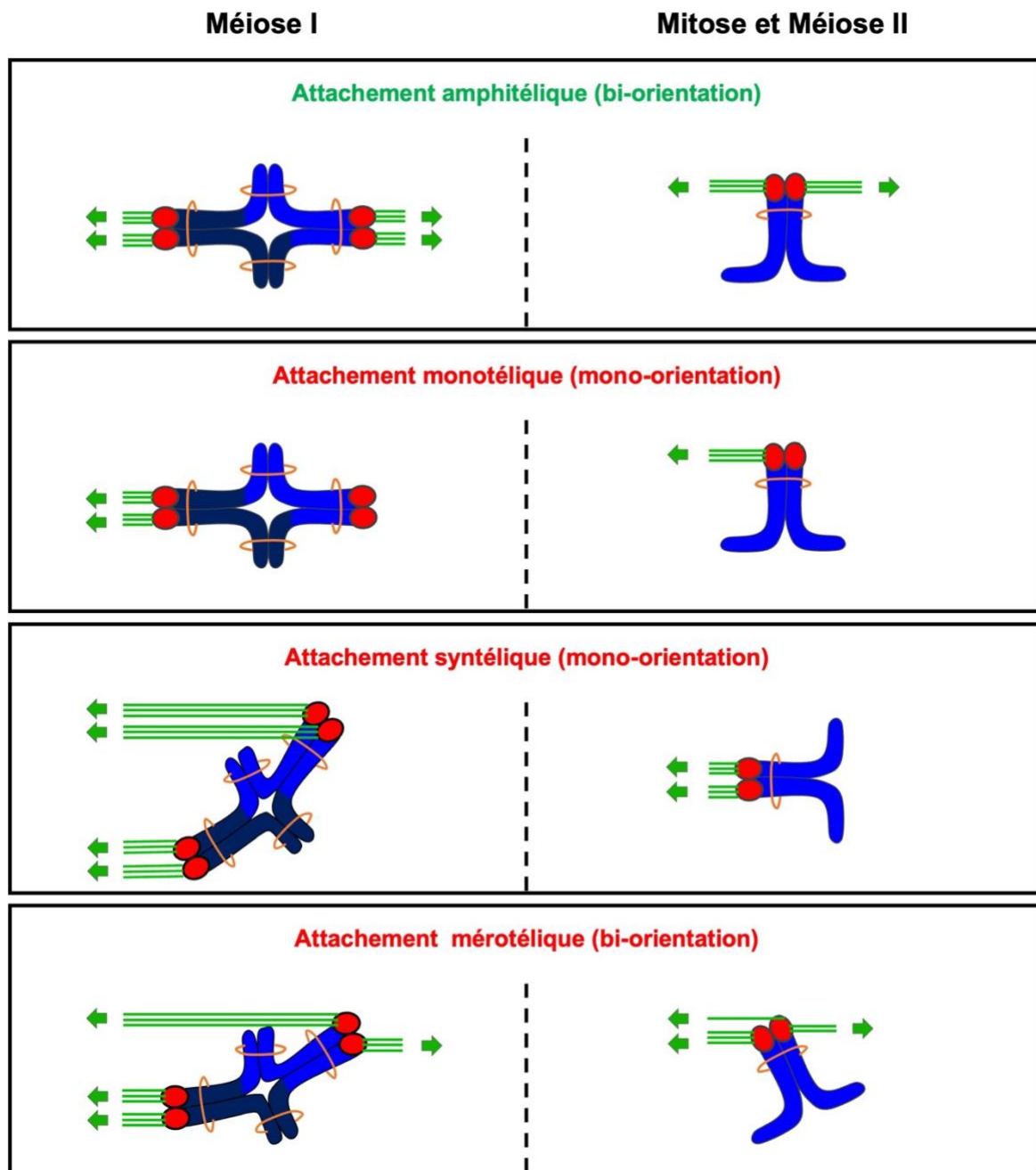


Figure 16. Les différents types d'attachement en mitose et méiose.

L'attachement amphitétique consiste en l'attachement bipolaire des chromosomes homologues en méiose I et des chromatides sœurs en mitose ou méiose II. Il correspond à l'attachement correct. Les attachements monotéliques, syntéliques et mérotéliques sont des attachements incorrects, devant être corrigés avant l'anaphase.

Dans l'ovocyte de souris, les chromosomes bivalents s'attachent d'abord latéralement à la surface des microtubules et glissent vers l'équateur du fuseau où ils forment une ceinture en prométaphase I (Kouznetsova et al., 2019). Les chromosomes pénètrent ensuite à l'intérieur du fuseau où ils s'attachent à l'extrémité des microtubules et forment progressivement la plaque métaphasique. Kitajima et al. ont mis en évidence qu'en prométaphase I, 46% des attachements sont syntéliques ou mérotéliques (Kitajima et al., 2011). De plus, environ 90% des chromosomes subissent plusieurs séries d'attachement/détachement avant que les chromosomes soient correctement attachés et bi-orientés (Kitajima et al., 2011; Kitajima, 2018).

Il est important qu'un attachement incorrect soit corrigé avant la ségrégation des chromosomes. En effet, si l'anaphase est déclenchée alors qu'un chromosome n'est pas correctement attaché, il va ségréger de manière incorrecte et induire la formation d'une cellule aneuploïde. Par exemple, en méiose I, si les deux paires de kinétochores frères sont attachés au même pôle, les deux chromosomes vont aller dans la même direction. Si les kinétochores frères sont attachés simultanément aux deux pôles, le chromosome va aller aléatoirement d'un côté ou de l'autre, pouvant entraîner la formation d'une cellule aneuploïde.

Le CPC (Chromosome Passenger Complexe)

La correction des attachements KT-MT pendant la mitose et la méiose est assurée par le CPC (Chromosome Passenger Complex) qui détecte et détache les attachements incorrects. L'activité du CPC permet ainsi un nouvel attachement. Par conséquent, une succession d'attachement/détachement a lieu au niveau du kinétochore jusqu'à l'établissement d'un attachement correct.

Le CPC est situé au niveau de la chromatine centromérique et agit sur l'interaction KT-MT (Krenn et al., 2015). Il est composé des protéines Aurora B, Borealin, INCENP (Inner Centromeric Protein) et Survivin. En méiose, on retrouve également Aurora C dont la fonction est similaire à Aurora B. En effet, la perte simultanée d'Aurora B et C affecte la ségrégation des chromosomes en méiose I mais Aurora B et C ont la capacité de se compenser mutuellement (Balboula et al., 2014). Bien que leurs rôles distincts n'aient pas été clairement établis, il est généralement admis qu'Aurora B est la kinase principale du CPC en mitose alors qu'Aurora C serait plus importante en méiose. (Kuo Tai Yang et al., 2010; Nguyen et al., 2018). Aurora B et C sont des sérines/thréonine kinases et constituent la partie catalytique du complexe. Elles sont requises pour la condensation de la chromatine, l'assemblage du fuseau, la correction des attachements incorrects, et la cytokinèse (Adams et al., 2001; Vagnarelli et al., 2004).

Les autres protéines du CPC jouent un rôle dans la localisation du complexe (Cairo et al., 2020). En prophase, le CPC est associé sur les bras des chromosomes où il contribue à la condensation de la chromatine (Lipp et al., 2007; Ono et al., 2004; Beardmore et al., 2004). Sa localisation sur les bras est médiée par la protéine HP1 (Heterochromatin Protein 1) qui recrute INCENP (Ainsztein et al., 1998; Kitagawa et al., 2015). En prométaphase et métaphase, le CPC se localise entre les kinétochores frères au niveau du centromère interne (Hirota et al., 2005). Le recrutement du CPC au centromère interne dépend de la phosphorylation des histones H3 et H2A médiée respectivement par Haspin et Bub1 (Yamagishi et al., 2010). La phosphorylation de l'histone H3 (Thr3) par Haspin permet de recruter Survivin au niveau du centromère interne (Higgins, 2010). En parallèle, la phosphorylation de H2A (Ser121) par Bub1 permet la localisation de Sgo1 au centromère qui recrute Borealin (Kawashima et al.,

2010). Une fois recrutées au centromère, Borealin et Survivin se lient à la région N-terminal d'INCENP. La séquence « IN-Box » située sur la partie C-Terminal d'INCENP interagit avec Aurora B permettant son recrutement au centromère (Klein et al., 2006).

Les kinases Aurora B et C induisent le détachement des microtubules en phosphorylant des substrats spécifiques sur les kinétochores tels que NDC80, MIS12 et KNL1, constituants du réseau KMN. Notamment, la protéine Hec1 est responsable de l'attachement des microtubules et la phosphorylation de Hec1 sur la sérine S55 diminue son affinité avec les microtubules (Welburn et al., 2010; Wimbish et al., 2020b). Cependant, il a été montré que la phosphorylation de Hec1 n'est pas suffisante pour détacher les microtubules. En effet, la phosphorylation simultanée de Hec1, Mis12 et Knl1 est nécessaire pour déstabiliser la liaison des microtubules aux kinétochores (Welburn et al., 2010).

Le mécanisme de correction en mitose

Le CPC a la capacité de déstabiliser les attachements incorrects en phosphorylant des protéines du KMN responsables de l'interaction kinétochore-microtubule. Comment fait-il pour déstabiliser spécifiquement les attachements incorrects et au contraire stabiliser les attachements corrects ? En mitose, le modèle de « séparation spatiale » repose sur la distance entre la kinase Aurora B située dans la partie interne du centromère et ses substrats situés dans la partie externe du kinétochore. Ainsi, la distance entre le centromère et le kinétochore influence l'accessibilité de la kinase Aurora B à ses substrats tel que Hec1 (Kelly et al., 2009). Or, cette distance dépend de l'attachement des microtubules et de la tension qui est générée entre les kinétochores. En effet, lorsque les microtubules de chacun des pôles sont attachés à chacune des chromatides sœurs, ils exercent des forces de traction

de part et d'autre qui génèrent une tension qui éloigne les kinétochores frères du centromère interne (tension « forte »). Au contraire, lorsque l'attachement est incorrect (syntélique ou mérotélique), les forces exercées sur chaque chromatide sœur ne sont pas équilibrées et ne génèrent pas une tension suffisante pour éloigner les kinétochores frères du centromère interne (tension « faible ») (Maresca and Salmon, 2009).

Ainsi lorsque l'attachement est incorrect, Aurora B est proche de ses substrats et induit leur phosphorylation, favorisant ainsi le détachement des microtubules (Jennifer G. DeLuca et al., 2006). Au contraire, lorsque l'attachement est correct, Aurora B n'est pas assez proche de ses substrats et ne peut pas les phosphoryler. Les substrats d'Aurora B sont alors déphosphorylés par PP2A-B56 qui stabilise l'attachement. En effet, l'activité kinase d'Aurora B est contrebalancée par l'activité phosphatase de PP2A-B56 qui est recrutée sur les kinétochores et qui permet de stabiliser les attachements quand ils sont corrects et sous tension (Foley et al., 2011; Suijkerbuijk et al., 2012; Lampson et al., 2011). C'est donc la balance entre la kinase Aurora B et la phosphatase PP2A-B56 dépendant de la tension générée entre les kinétochores frères qui gouverne l'état de phosphorylation des substrats. Lorsque l'activité d'Aurora B prédomine, l'attachement est déstabilisé, alors que lorsque la phosphatase PP2A prédomine, l'attachement est stabilisé (Foley et al., 2011; Krenn et al., 2015) (**Figure 17**).

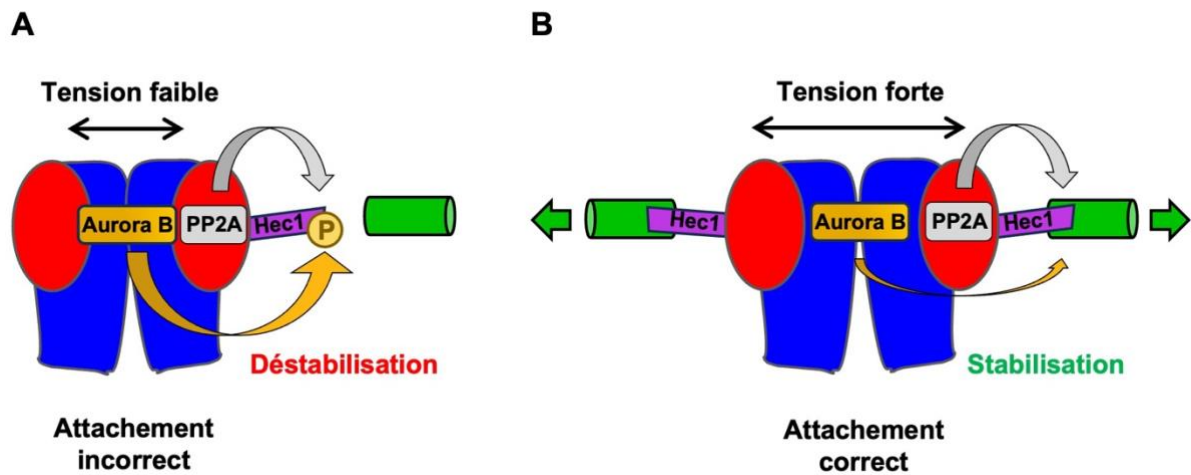


Figure 17. Modèle de stabilisation/déstabilisation des attachements en mitose.

(A) Déstabilisation d'un attachement KT-MT incorrect et (B) stabilisation d'un attachement KT-MT correct. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les kinétochores en rouge. L'intensité de la tension est représentée par la flèche bidirectionnelle noire. (A) Une tension faible rapproche Aurora B de ses substrats au KT. Aurora B domine PP2A, phosphoryle Hec1 et déstabilise l'attachement KT-MT. (B) Une tension forte éloigne Aurora B du KT. PP2A domine Aurora B et induit la déphosphorylation de Hec1, stabilisant l'attachement KT-MT.

En méiose I, l'attachement correct permettant la biorientation des chromosomes homologues est considéré comme incorrect en mitose puisque les chromatides sœurs sont mono-orientées. Dans cette configuration, la tension ne peut pas être générée entre les deux kinétochores frères. Ainsi, comment les attachements incorrects sont-ils reconnus en méiose I ? En méiose I, il a été montré que le CPC est nécessaire pour la correction des erreurs d'attachements, mais l'implication de la tension dans la détection des attachements incorrects a longtemps fait débat. Cette question a été étudiée au laboratoire (Vallot et al., 2018) et sera traitée dans le chapitre V de mon introduction.

Rôle d'Aurora A dans le mécanisme de correction

Aurora A est une autre kinase de la famille d'Aurora B et C, qui est impliquée dans l'entrée en mitose, la formation des pôles et l'assemblage du fuseau (Pillan et al., 2022; Seki et al., 2008). Alors que l'activité d'Aurora B/C est située au niveau du centromère, l'activité d'Aurora A est située aux pôles du fuseau. Cependant, il a récemment été mis en évidence un rôle d'Aurora A dans la correction des attachements au kinétochore. En effet, l'utilisation d'un inhibiteur d'Aurora A dans des cellules de mammifères provoque une augmentation des erreurs d'attachements associées à des chromosomes qui traînent en anaphase. Dans les cellules humaines, il a été montré qu'Aurora A est capable de phosphoryler Hec1 sur la sérine S55 au kinétochore comme Aurora B/C (Ye et al., 2015). Une autre étude en mitose, a montré que Aurora A phosphorylerait également Hec1 sur la sérine S69, identifiée comme essentielle pour l'attachement KT-MT. Aurora A et B seraient ainsi capables de phosphoryler les mêmes sites de Hec1 mais avec des degrés de spécificité différents (Keith F. DeLuca et al., 2018).

Le modèle qui a été proposé est que les chromosomes mal attachés se rapprochent d'un pôle du fuseau et entrent dans le champ d'action d'Aurora A. Les protéines du KMN sont donc phosphorylés par Aurora B/C et Aurora A qui coopèrent pour déstabiliser les attachements incorrects. Lorsque les chromosomes sont alignés, ils sont positionnés plus loin des pôles du fuseau, et sortent du rayon d'action d'Aurora A (Kitajima, 2018). Aurora A contribuerait par conséquent à la correction des erreurs d'attachements seulement à proximité des pôles (Ye et al., 2015).

Ce modèle a également été proposé en méiose I, où la proximité des pôles déstabilise les attachements KT-MT incorrects pour permettre la formation d'attachements corrects. Ce processus dépend de Aurora A et son inhibition restaure

les attachements KT-MT au niveau des pôles. Ainsi la position des chromosomes au niveau du fuseau aurait un impact sur le mécanisme de correction (Chmátal et al., 2015).

C. Le contrôle de la transition métaphase-anaphase

Le SAC (Spindle Assembly Checkpoint)

En parallèle du CPC qui détecte les erreurs d'attachements, le SAC contrôle l'entrée en anaphase. Il détecte les kinétochores non attachés et empêche le clivage des cohésines tant que tous les kinétochores ne sont pas correctement attachés. En effet, un kinétochore non ou mal attaché peut entraîner une séparation aléatoire des chromosomes lors de l'anaphase et par conséquent une aneuploïdie. En retardant l'anaphase, le SAC laisse du temps pour corriger les erreurs d'attachements et coordonne l'attachement correct des chromosomes avec le clivage des cohésines.

Le SAC a d'abord été décrit en mitose puis son fonctionnement a été confirmé en méiose. En présence de kinétochores non attachés, les protéines du SAC, telles que Mps1, Bub1, Bub3, BubR1, Mad1 et Mad2 sont recrutées sur les kinétochores. Ces protéines conduisent à la formation d'un complexe appelé MCC (Mitotic Checkpoint Complex) constitué de Bub3, BubR1, Mad2 et Cdc20. Le MCC inhibe l'APC/C-Cdc20 et empêche l'ubiquitination de la Cycline B et de la Sécurine qui ne sont pas dégradées par le protéasome 26S (Song-Tao Liu et al., 2016). Ainsi, Cdk1 reste active et maintient l'inhibition de la Séparase avec la Sécurine (Yu et al., 2021). Au contraire, lorsque tous les kinétochores sont correctement attachés, le SAC est « éteint », l'APC/C-Cdc20 est activé et provoque la dégradation de la Cycline B et de

la Sécurine par le protéasome 26S. En absence de ces inhibiteurs, la Séparase est activée et induit le clivage des cohésines (Lara-Gonzalez et al., 2012) (**Figure 18**).

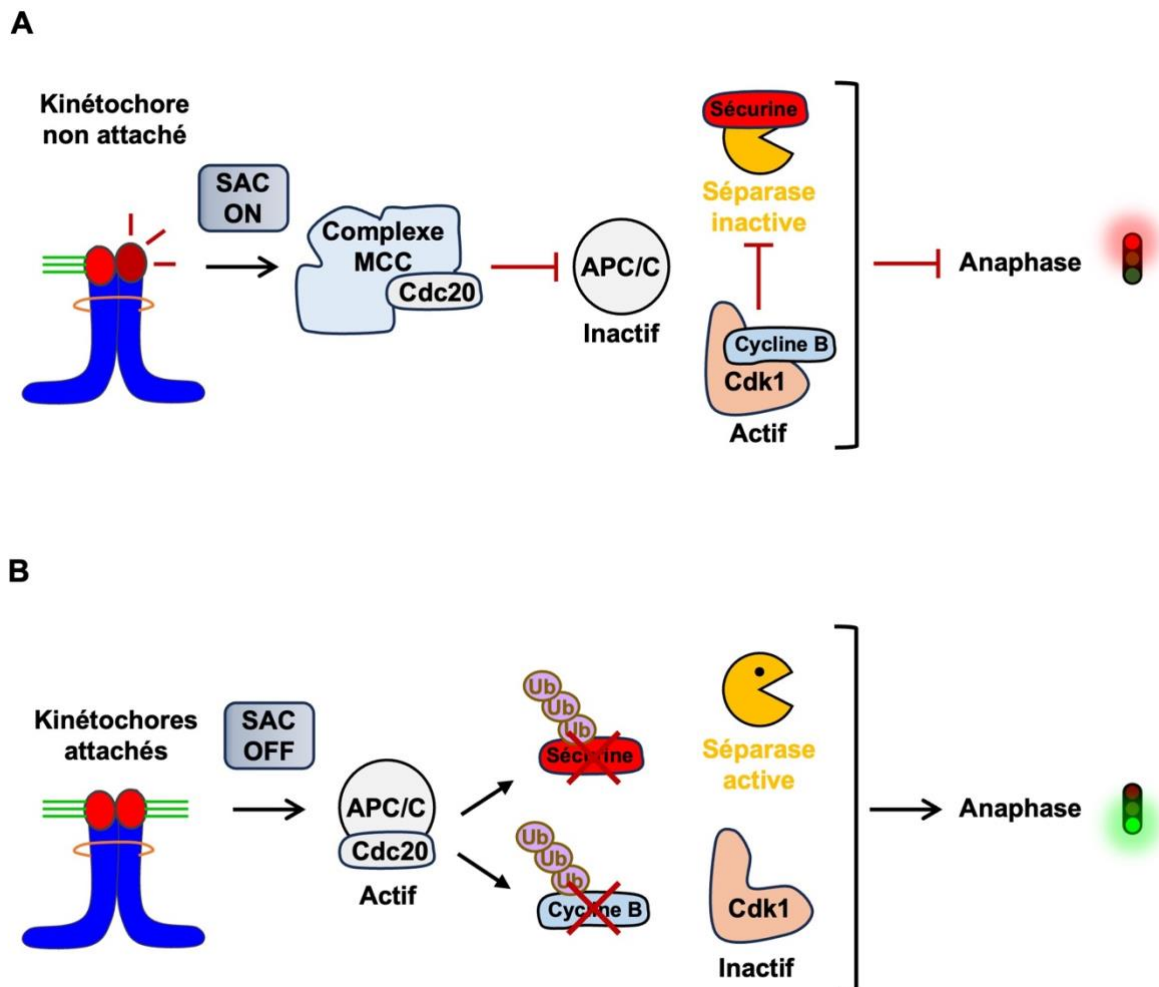


Figure 18. L'entrée en anaphase est régulée par le SAC.

(A) Un kinétochore non attaché active le SAC (SAC ON) et permet l'assemblage du complexe MCC. Celui-ci « séquestre » Cdc20 et inhibe l'APC/C. Cela a pour conséquence d'empêcher l'ubiquitination de la Cycline B et de la Sécurine qui ne sont pas dégradées par le protéasome 26S. La Séparase est inactive et l'anaphase ne peut pas avoir lieu. (B) Lorsque tous les kinétochores sont attachés, le SAC est inactif (SAC OFF). Cela libère Cdc20, permettant à l'APC/C de devenir actif et d'ubiquitiner la Sécurine ainsi que la Cycline B. En absence d'inhibition, la Séparase devient active et clive la cohésine pour permettre l'entrée en anaphase.

Dans les ovocytes de mammifère, la fonctionnalité du SAC a longtemps été remise en question en raison de la fréquence des erreurs de ségrégation. Cependant,

plusieurs études ont montré que le SAC est conservé et fonctionnel en méiose I. En effet, la perte de certaines protéines du SAC dans les ovocytes de souris entraîne le déclenchement prématuré de l'anaphase et s'accompagne d'une augmentation des erreurs de ségrégation (Marston et al., 2017). Ainsi, les protéines Mps1 (Hached et al., 2011; Touati et al., 2015), Bub1 (McGuinness et al., 2009), BubR1 (Touati et al., 2015) et Mad2 (Niault et al., 2007; Wassmann et al., 2003) ont été montrées comme essentielles au fonctionnement du SAC en méiose I. Cependant, le SAC en méiose I semble plus permissif qu'en mitose. En effet, un seul kinétochore non attaché en mitose est suffisant pour activer le SAC et inhiber l'entrée en anaphase, alors qu'en méiose I, il faut plusieurs kinétochores mal attachés pour activer le SAC. Dans les ovocytes de souris, en méiose I, la Sécurine et la Cycline B commencent à être dégradées avant que tous les chromosomes soient correctement alignés sur la plaque métaphasique, suggérant que le SAC est inactivé malgré la présence de kinétochores mal attachés (Simon I.R. Lane et al., 2012).

Dans l'ovocyte de souris, le SAC est également fonctionnel en méiose II mais il a été beaucoup moins étudié qu'en méiose I. En effet, l'étude du SAC en méiose II est délicate car l'ovocyte est arrêté en métaphase II et nécessite la fécondation pour progresser en anaphase II. *In vitro*, les ovocytes peuvent être traités avec le strontium qui mime la fécondation et active la progression en anaphase II. Ainsi, dépolymériser les microtubules avec le Nocodazole provoque le recrutement de Mad2 au kinétochore et bloque la sortie de la méiose II après activation par le strontium, indiquant que le SAC est fonctionnel en méiose II et capable d'empêcher l'anaphase II en présence de kinétochore non attachés (Tsurumi et al., 2004b; Kouznetsova et al., 2014). L'injection dans l'ovocyte de souris d'ARNm codant un dominant négatif de Bub1, Mad2 ou BubR1 abolit le SAC et permet la progression de la méiose II malgré un traitement au

Nocodazole. De plus, le SAC n'est pas nécessaire pour maintenir l'activité CSF. En effet, l'inhibition du SAC ne permet pas de contourner l'arrêt en métaphase II (Tsurumi et al., 2004).

Le recrutement des protéines du SAC et formation du MCC

Le réseau KMN est essentiel dans le recrutement des protéines du SAC sur la plaque externe du kinétochore. En mitose et en méiose, la protéine kinase Mps1 est d'abord recrutée au kinétochore sur le complexe NDC80 de façon dépendante d'Aurora B (Vigneron et al., 2004; Santaguida et al., 2010; Gorbsky, 2015). Cependant, comment Aurora B recrute Mps1 reste à éclaircir. Des études ont identifié le complexe KNL1 comme substrat de Mps1 permettant de recruter les autres protéines du SAC (London et al., 2012; Yamagishi et al., 2012). En effet, la phosphorylation des motifs MELT de KNL1 permet la liaison de la protéine Bub3 qui recrute à son tour la protéine Bub1. Ensemble le complexe Bub3-Bub1 permet le recrutement de la pseudo-kinase BubR1 (homologue de Mad3 dans les cellules animales) qui forme un deuxième complexe avec Bub3 (Bub3-BubR1) (Overlack et al., 2017). Bub1 permet le recrutement du complexe Mad1-Mad2. Liée à Mad1, Mad2 est dans une conformation dite « fermée » (C-Mad2 pour Closed-state Mad2). C-Mad2 permet l'association d'une protéine O-Mad2. La forme « ouverte » de Mad2 (O-Mad2 pour Open-state Mad2) est converti en C-Mad2 pour se lier à Cdc20. Le complexe Mad2-Cdc20 se lie au complexe Bub3-BubR1 pour former le MCC (Fischer, 2023; Tipton et al., 2013). Le MCC « séquestre » ainsi le coactivateur Cdc20 et l'empêche d'activer l'APC/C. Le MCC inhibe aussi l'APC/C en bloquant le site de liaison des substrats de l'APC/C (Musacchio, 2015; Foley et al., 2013) (**Figure 19**).

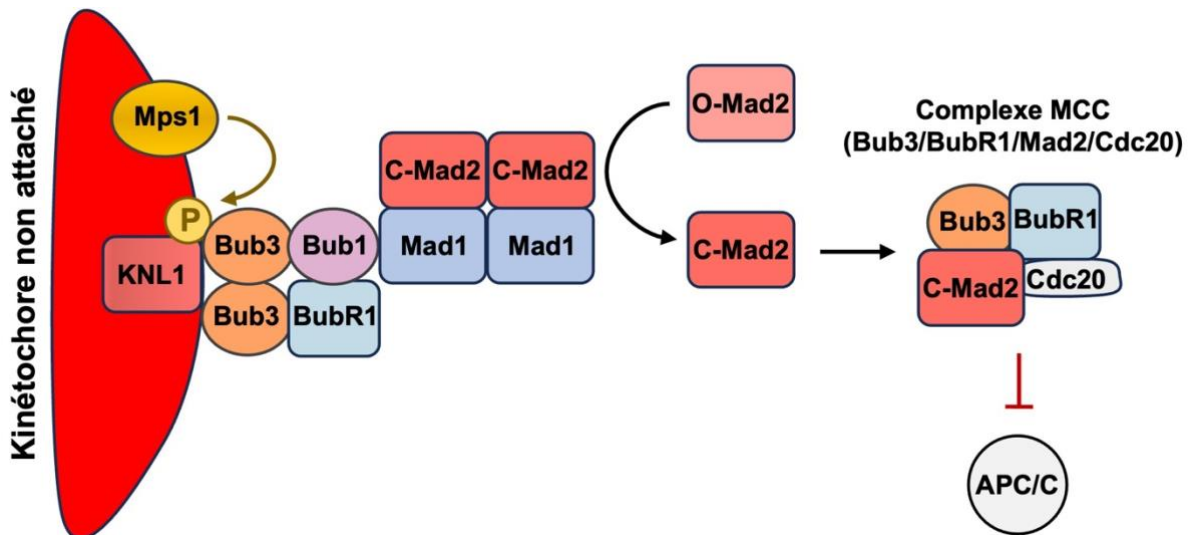


Figure 19. La formation du complexe MCC aux kinétochores non attachés.

Mps1 phosphoryle le complexe KNL1 qui recrute Bub3, Bub1 et BubR1. Ces dernières permettent le recrutement des dimères Mad1-C-Mad2 (« closed »). Mad1-C-Mad2 permet de convertir une autre protéine O-Mad2 en C-Mad2 pour interagir avec Cdc20. Le complexe Mad2-Cdc20 se lie au complexe Bub3-BubR1 pour former le MCC qui séquestre Cdc20 et inhibe l'APC/C en bloquant le site de liaison des substrats de l'APC/C.

L'inactivation du SAC

Lorsque tous les kinétochores sont correctement attachés, le SAC est éteint et l'inhibition de l'APC/C par le MCC doit pouvoir être levée efficacement pour induire l'entrée en anaphase rapidement.

Pour empêcher la formation du MCC, deux stratégies ont été décrites dans la littérature. La première consiste au transport de certains composants du SAC des kinétochores vers les pôles. En effet, la dynéine/dynactine permet par exemple de transporter les protéines Mad1-Mad2 sur les microtubules vers les pôles. La dynéine/dynactine est recrutée sur les kinétochores par le complexe RZZ (Rod-Zw10-Zwilch) et Spindly. RZZ est requis pour l'activation du SAC puisqu'il permet le recrutement de Mad2 aux kinétochores non attachés (Buffin et al., 2005). Il est également requis pour l'inactivation du SAC en recrutant la dynéine/dynactine

nécessaire à l'élimination de Mad2 quand les kinétochores sont attachés. L'élimination de Mad1-Mad2 sur les kinétochores arrête la néoformation du MCC qui ne peut plus maintenir l'inhibition de l'APC/C-Cdc20 (Howell et al., 2001).

La deuxième stratégie est la dissociation des protéines du SAC des kinétochores. Elle fait intervenir les phosphatases PP1 (Protein phosphatase 1) et PP2A-B56 qui contrebalancent l'activité de Mps1 en déphosphorylant les motifs MELT de KNL1. La déphosphorylation des motifs MELTs provoque la dissociation des protéines Bub3 et Bub1 empêchant le recrutement des autres protéines du SAC et la formation du MCC (London et al., 2012).

V. Contexte et objectifs

A. La génération de la tension

Après leur biorientation, les chromosomes oscillent à l'équateur du fuseau jusqu'à ce que les forces qui tirent de part et d'autre s'équilibrent. Les forces responsables des oscillations sont médiées par la dynamique des microtubules et le phénomène de « tapis roulant » (treadmilling) (Rodionov et al., 1997). Le « tapis roulant » illustre le fait qu'une extrémité des microtubules se polymérise pendant que l'autre extrémité se dépolymérise, entraînant un flux de tubuline à l'intérieur des microtubules. Dans les cellules humaines en mitose, les complexes Ska (Spindle and kinetochore-associated Complex) et NDC80 coopèrent pour maintenir la connexion entre le kinétochore et l'extrémité (+) des microtubules pendant qu'elle polymérise (Helgeson et al., 2018). Le complexe Ska a également été retrouvé dans les ovocytes de souris et joue un rôle important dans la stabilité des interactions KT-MT (Zhang et al., 2012; Helgeson et al., 2018). La dynamique de l'extrémité (+) qui est maintenue liée au kinétochore contribue à tirer le kinétochore. En mitose, les forces de traction exercées par les microtubules sur chaque kinétochore frère finissent par s'équilibrer et les chromosomes s'alignent sur la plaque métaphasique. Cet équilibre des forces génère une tension entre les deux kinétochores frères attachés à des microtubules venant de pôles opposés (tension inter-kinétochore). De plus, ces forces génèrent une déformation au sein même du kinétochore entre la partie interne et externe dû à « l'étirement » du kinétochore (tension intra-kinétochore) (Krenn et al., 2015). La kinésine Eg5 qui maintient l'écartement des pôles contribue également aux forces qui tirent sur les kinétochores (Shimamoto et al., 2015). En méiose I, les kinétochores

frères sont orientés vers le même pôle. Ainsi, les microtubules tirent dans la même direction et ne génèrent pas une tension inter-kinétochore entre les kinétochores frères. Cependant, les microtubules tirent sur les paires de kinétochores frères de façon opposée. Les chromosomes homologues étant maintenus ensemble par les chiasmats, l'ensemble du bivalent, soumis aux forces de traction, s'étire et une tension intra-kinétochore est générée sur chaque kinétochore (Yoshida et al., 2015). En méiose II, l'attachement des chromatides sœurs s'apparente à la mitose et les kinétochores frères sont bi-orientés. De ce fait, les kinétochores frères subissent un « étirement » et sont soumis à la fois à une tension inter- et intra-kinétochore comme en mitose (**Figure 20**).

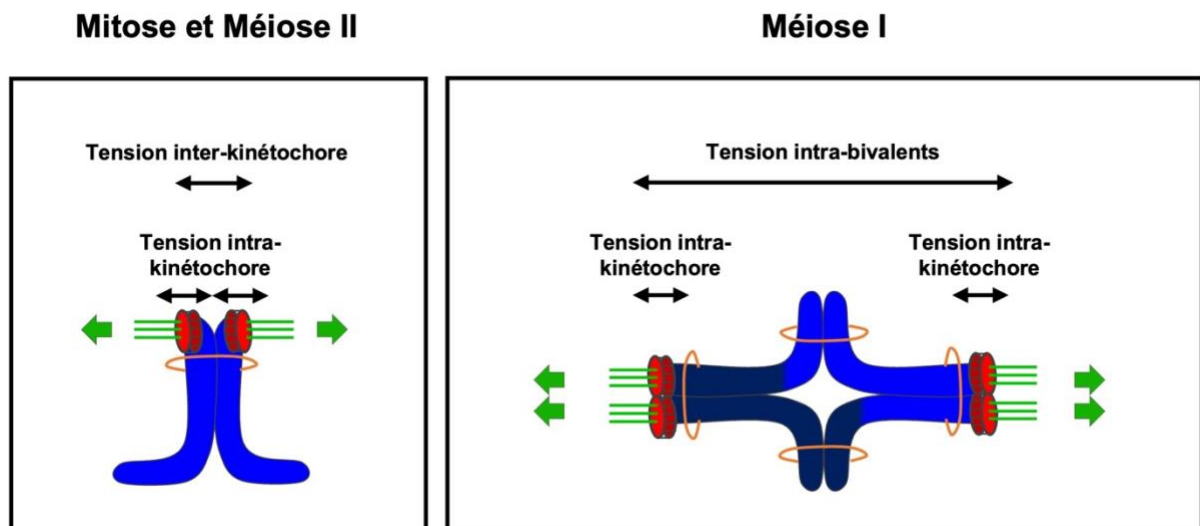


Figure 20. La tension en mitose et en méiose.

En mitose et en méiose II, les kinétochores frères sont bi-orientés. Les microtubules tirent sur les kinétochores frères dans des directions opposées. Ces forces de traction génèrent une tension entre les deux kinétochores frères (tension inter-kinétochore) et à l'intérieur du kinétochore entre la plaque interne (en bordeaux) et la plaque externe (en rouge) (tension intra-kinétochore). En méiose I, les chromosomes homologues sont bi-orientés et les kinétochores frères sont orientés vers le même pôle. Les chromosomes homologues étant maintenus ensemble par les chiasmats, les forces exercées par les microtubules génèrent une tension sur l'ensemble du bivalent (tension intra-bivalents) et une tension intra-kinétochore. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les cohésines en orange. Les différentes nuances de bleu sur les chromosomes représentent les échanges chromosomiques entre les chromosomes homologues.

Est-ce que le SAC détecte uniquement l'attachement kinétochore-microtubule ou la tension ? La tension étant difficile à découpler de l'attachement, cette question a longtemps fait débat. Des expériences effectuées par Nicklas en méiose I sur des spermatocytes d'insecte ont permis de montrer que tirer artificiellement sur les kinétochores suffisait pour déclencher l'anaphase suggérant que la tension permet d'éteindre le SAC (Callan et al., 1957; Nicklas, 1997). L'étude de Maresca et al. a montré que l'étirement du kinétochore influence le recrutement de certaines protéines du SAC et son activation (Maresca and Salmon, 2009). Cependant, une autre étude a utilisé une version non phosphorylable de Hec1 qui provoque la stabilisation des attachements incorrects (Etemad et al., 2015). Dans ce contexte, les cellules sont incapables de retarder l'anaphase alors que la tension est faible. Ces résultats suggèrent que l'interaction KT-MT est suffisante pour éteindre le SAC sans nécessiter l'établissement de tension. Aujourd'hui, il est généralement admis que le SAC détecte la tension indirectement puisque la tension induit le détachement des microtubules par l'intermédiaire du CPC mais que c'est l'activité du CPC qui varie en fonction de la tension.

B. La sensibilité à la tension en méiose I

Aurora B/C est requise pour la correction des attachements en méiose I

En méiose I, la configuration des chromosomes diffère de la mitose puisque les chromosomes homologues sont bi-orientés et les deux kinétochores frères sont mono-orientés. De ce fait, l'attachement correct des chromosomes homologues ne génère

pas de tension inter-kinétochore entre les deux kinétochores frères d'un même chromosome. Le modèle selon lequel la tension inter-kinétochore empêche la phosphorylation de Hec1 par Aurora B et stabilise l'attachement KT-MT n'est donc pas applicable à la méiose I. On peut donc se demander comment les attachements corrects et incorrects sont distingués en méiose I. Est-ce que la tension intra-kinétochore générée en méiose I est suffisante pour permettre à Aurora B/C de déstabiliser spécifiquement les attachements incorrects en méiose I ?

Dans les ovocytes de souris, les kinases Aurora B/C sont bien requises pour la correction des attachements incorrects en méiose I. En effet, l'inhibition chimique d'Aurora B et C par ZM447439 montre une stabilisation des attachements KT-MT incorrects qui se traduit par un défaut d'alignement, témoignant que l'activité d'Aurora B/C est nécessaire pour déstabiliser les attachements KT-MT incorrects, comme en mitose (Davydenko et al., 2013). De plus, dans une étude de Balboula et al., une mutation sur le site de fixation de l'ATP d'Aurora C provoque une augmentation du pourcentage d'attachements KT-MT anormaux qui s'accompagne d'un défaut dans l'alignement des chromosomes (Balboula et al., 2014). Cela suggère qu'Aurora C est essentielle pour le mécanisme de correction dans les ovocytes de souris. En parallèle, Kitajima et al. ont montré que l'inhibition d'Aurora B/C réduit le nombre de cycle d'attachement/détachement des kinétochores confirmant leur rôle dans le mécanisme de correction (Kitajima et al., 2011). Cependant, le rôle de la tension dans la régulation de l'activité d'Aurora B/C semble moins claire en méiose I.

La tension n'est pas requise pour la stabilisation des attachements en méiose I

Yoshida et al. ont montré que l'étirement des bivalents en méiose I n'est pas corrélé avec la stabilisation des attachements. En effet, les attachements KT-MT sont stabilisés bien après que les bivalents se soient bi-orientés et étirés donc indépendamment de la tension. De plus, ils ont observé qu'Aurora B/C et INCENP restent à proximité des kinétochores malgré l'étirement des bivalents et pourraient garder la capacité de phosphoryler Hec1 même après la bi-orientation des chromosomes. Ainsi, cette étude suggère que la tension en méiose I n'influence pas la proximité d'Aurora B/C avec ces substrats et n'intervient pas dans la stabilisation des attachements corrects en méiose I. Ils proposent que la stabilisation des attachements dépend de l'activité de Cdk1-Cycline B qui s'accumule progressivement dans l'ovocyte et permet le recrutement au kinétochore de la phosphatase PP2A-B56 après la phosphorylation du domaine KARD de BubR1 permise par Cdk1 et Plk1 (Huang et al., 2008; Kruse et al., 2013). L'accumulation de PP2A-B56 contrecarre progressivement l'activité d'Aurora B/C et stabilise les attachements indépendamment de la tension. D'après leur hypothèse, ce ne serait donc pas la bi-orientation des chromosomes et la tension qui gouverneraient la stabilisation des attachements mais plutôt l'activité de Cdk1 et PP2A qui s'accumulerait pour permettre la stabilisation des attachements au bout d'un certain temps.

Une tension réduite active la correction des attachements

Si les attachements sont finalement stabilisés indépendamment de la tension par PP2A, on peut se demander si les attachements incorrects peuvent malgré tout être déstabilisés par Aurora B/C.

Dans des ovocytes de souris KO pour la protéine Numa, dans lesquels les extrémités (-) des microtubules ne sont pas correctement associées aux pôles, certains bivalents présentent une réduction de tension. Dans ce contexte, le SAC n'est pas capable de retarder l'anaphase I malgré une réduction de la tension au kinétochore et les chromosomes homologues ségrégent anormalement. Cette étude suggère que le CPC n'a pas déstabilisé les attachements malgré une tension réduite (Kolano et al., 2012). Cependant, dans cette étude seuls quelques chromosomes ont une tension réduite et ne suffisent peut-être pas pour activer le SAC.

Une autre étude menée précédemment dans l'équipe de Katja Wassmann a confirmé l'importance de la tension dans la correction des erreurs d'attachements en méiose I. En effet, dans cette étude, la tension a été réduite chimiquement à l'aide du STLC (S-Trityl-L-Cystéine), un inhibiteur de Eg5 (kinésine-5) responsable de l'éloignement des pôles et la bipolarisation du fuseau (Brier et al., 2004; Skoufias et al., 2006). Vallot et al. ont démontré qu'une tension réduite en métaphase I active la déstabilisation des attachements dépendant de l'activité d'Aurora B/C (Vallot et al., 2018). Ainsi, ils ont observé une augmentation de la phosphorylation de la protéine Hec1 au niveau des kinétochores. Les kinétochores non attachés résultant de l'activité déstabilisatrice d'Aurora B/C activent le SAC et retarde l'anaphase I (Vallot et al., 2018) **(Figure 21)**.

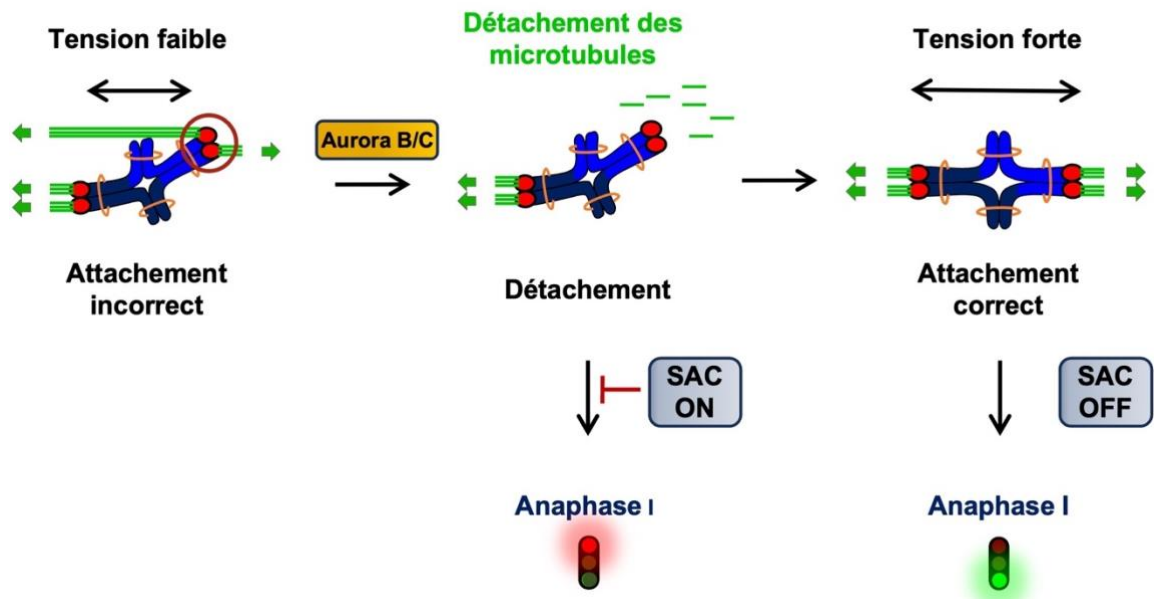


Figure 21. Détection de la tension en méiose I.

Mécanismes moléculaires mis en jeu à la suite d'un attachement KT-MT incorrect. Les chromosomes sont représentés en bleu, les microtubules en vert et les kinétochores en rouge. L'intensité de la tension est représentée par une flèche bidirectionnelle en noir et les forces de traction par des flèches vertes. Lorsque les chromosomes ne sont pas attachés de façon bipolaire, la tension est faible. Cela induit le détachement des microtubules par Aurora B/C et par conséquent, l'activation du SAC qui inhibe le passage en anaphase I. Ce détachement donne la possibilité pour établir un nouvel attachement. Quand l'attachement est correct, la tension est forte, l'attachement est stabilisé et le SAC est inactif, autorisant le passage en anaphase I.

Ainsi, bien que la tension ne soit pas essentielle pour la stabilisation des attachements corrects qui serait médiée principalement par PP2A, une diminution de la tension permet bien de déstabiliser les attachements incorrects même en métaphase I. La tension permettrait, comme en mitose, de distinguer les attachements corrects des attachements incorrects même si la tension n'est pas générée entre les kinétochores frères. Si la localisation d'Aurora B/C est influencée par la tension en méiose I n'est pas connue actuellement.

C. Projet de thèse : Étude du mécanisme de correction des erreurs d'attachement en méiose II

Une particularité de la méiose II dans l'ovocyte de mammifère, est l'arrêt physiologique en métaphase II qui est maintenu jusqu'à la fécondation. Cet arrêt donne davantage de temps à l'ovocyte pour établir des attachements corrects et permettre la bi-orientation des chromatides sœurs. De ce fait, la méiose II est moins sujette aux erreurs que la méiose I. Pourtant chez l'être humain, 50% des trisomies 8, 58,7% des trisomies 18 et 23,6% des trisomies 21 sont issus d'erreurs de ségrégation en méiose II (Hassold et al., 2001). Cela suggère que des erreurs subsistent même en métaphase II et serait responsables de la ségrégation incorrecte des chromatides sœurs en méiose II (Nagaoka et al., 2012).

Dans les ovocytes de souris, la majorité des ovocytes en méiose II se divise sans erreurs de ségrégation. Cependant, Kouznetsova et al. ont observé que 20% des ovocytes présentent un désalignement transitoire des chromosomes en métaphase II (Kouznetsova et al., 2014). Ces défauts d'alignement seraient dû à des attachements mérotéliques qui seraient corrigés pour la plupart avant l'anaphase II. Pourtant parmi ces ovocytes, 9% présentent des chromatides sœurs en retard au début de l'anaphase II. Cela suggère qu'une partie des attachements incorrects ne sont pas détectés et corrigés lors de la méiose II et que l'anaphase peut quand même avoir lieu (Kouznetsova et al., 2014).

Par ailleurs, une autre étude de Kouznetsova et al. a analysé la dynamique des chromosomes en temps réel dans les ovocytes de souris et ont observé que 20% des attachements étaient mérotéliques ou latéraux en métaphase II (Kouznetsova et al.,

2019). Pourtant seul 1% des chromatides sœurs sont retardées pendant l'anaphase II. Ainsi la majorité des attachements incorrects sont résolus pendant l'anaphase II. Ils suggèrent que les attachements « aberrants » ne sont pas corrigés en métaphase II mais ferait intervenir un processus de correction post-métaphase au moment de la ségrégation des chromatides sœurs (Kouznetsova et al., 2019). Ces résultats suggèrent que le CPC ne serait pas fonctionnel et laisserait passer des erreurs d'attachements en méiose II.

Le mécanisme de correction des erreurs d'attachement a été principalement étudié en méiose I mais pas en méiose II. Afin de mieux comprendre l'origine des erreurs observées en méiose II, l'objectif de ma thèse a été de déterminer si le CPC est fonctionnel et si Aurora B/C sont capables de détecter une tension réduite en méiose II dans l'ovocyte de souris.

Résultats

Article : L'arrêt prolongé en métaphase II affaiblit le mécanisme de correction dépendant des kinases Aurora B/C dans les ovocytes de souris.

Mon premier objectif a été de caractériser la progression de la méiose II dans les conditions expérimentales afin de déterminer quand les chromosomes commencent à s'aligner et quand la tension inter-kinétochore est établie dans les ovocytes de souris. J'ai observé que les chromosomes commencent à former une plaque métaphasique environ 10 h après GVBD (3h après l'anaphase I) mais plusieurs chromosomes ne sont pas encore alignés 12h après GVBD alors que la majorité des chromosomes est alignée sur la plaque métaphasique à 18h. En mesurant la distance entre deux kinétochores frères, j'ai observé une réduction significative de la tension entre 12h et 18h. Ce résultat est surprenant car la tension est généralement corrélée à l'alignement des chromosomes. En effet, Kouznetsova et al. ont observé une augmentation de la distance inter-KT entre la prométaphase II et la métaphase II (2h30 après l'anaphase I dans leur étude) (Kouznetsova et al., 2019). A partir de ces résultats, nous avons décidé de considérer qu'à 12h après GVBD, les ovocytes sont en métaphase II précoce : la majorité des chromosomes sont alignés et soumis à une tension élevée, mais plusieurs chromosomes restent encore mal alignés. A 18h après GVBD, les ovocytes sont en métaphase II tardive : les chromosomes sont parfaitement alignés mais soumis à une tension faible.

La réduction naturelle de la tension en métaphase II tardive soulève des questions concernant la correction des attachements. En effet, si même les attachements corrects présentent une tension faible en métaphase II tardive, le

mécanisme de correction et le SAC ont dû s'adapter pour empêcher la déstabilisation continue des attachements corrects et permettre la progression en anaphase II. A l'inverse, comment les attachements incorrects peuvent être reconnus pour être spécifiquement déstabilisés ? Nous nous sommes donc demandé si le CPC et le SAC pouvaient répondre à une diminution de la tension et pouvaient induire un retard de l'anaphase.

Dans un premier temps, j'ai montré que le SAC est bien fonctionnel et est capable de bloquer l'entrée en anaphase II suite à la dépolymérisation des microtubules par le nocodazole en métaphase II précoce ou tardive. Ensuite, j'ai vérifié que le CPC est bien capable de détecter une diminution de tension induite par le STLC en métaphase II précoce. Nous avons observé que le traitement des ovocytes avec le STLC en métaphase II précoce induit une augmentation de la phosphorylation de Hec1 et une augmentation de Mad2 aux kinétochores. De plus, j'ai observé qu'un traitement au STLC retarde fortement l'anaphase II. Cela suggère qu'en métaphase II précoce, le mécanisme de correction est fonctionnel et est capable de déstabiliser les attachements incorrects avec une faible tension, résultant à l'activation du SAC et un retard de l'anaphase.

Cependant, puisque la tension diminue naturellement en métaphase II tardive, les attachements ne devraient pas pouvoir être déstabilisés. En effet, lorsque le STLC est ajouté en métaphase II tardive, nous avons observé que Hec1 est moins phosphorylé, Mad2 ne s'accumule pas aux kinétochores et l'anaphase II n'est pas retardée. De plus nous avons montré qu'il y avait plus de PP2A sur les kinétochores en métaphase II tardive qu'en métaphase II précoce. Ainsi, en métaphase II tardive,

l'accumulation de PP2A permettrait de contrecarrer l'activité d'Aurora B/C même en présence d'une tension faible et permettrait d'empêcher la déstabilisation des attachements corrects. Cependant, les attachements incorrects ne devraient pas pouvoir être corrigés en métaphase II tardive.

Pour vérifier cela, j'ai généré artificiellement des attachements incorrects en générant la formation de fuseaux monopolaires. Pour cela j'ai utilisé de forte dose de STLC puis, j'ai mesuré le temps nécessaire pour que les chromosomes se réalignent après lavage du STLC et reformation du fuseau bipolaire. De façon surprenante, les ovocytes en métaphase II tardive sont aussi efficaces qu'en métaphase II précoce pour corriger les attachements monopolaires. Ainsi, le CPC reste fonctionnel en métaphase II tardive au moins pour détecter les erreurs sévères telles que générées dans les fuseaux monopolaires.

Enfin, j'ai montré que le temps pendant lequel les chromosomes restent bi-orientés affecte l'efficacité de correction des erreurs. En effet, j'ai réinitialisé les attachements en métaphase II tardive en dépolymérisant le fuseau par le froid. Puis j'ai permis la reformation du fuseau à 37°C. J'ai observé que l'anaphase II est légèrement retardée quand la tension est réduite immédiatement après le réalignement des chromosomes. Au contraire, l'anaphase II n'est pas retardée quand la tension est réduite 6h après la reformation du fuseau et le réalignement des chromosomes. Ainsi, le maintien de la bi-orientation des chromosomes pendant une période prolongée réduit la capacité de déstabiliser les attachements en réponse à une réduction de la tension.

Ainsi dans cet article, j'ai mis en évidence pour la première fois qu'après la bi-orientation des chromosomes, la tension diminue pendant l'arrêt prolongé en métaphase II. Malgré cette tension réduite, Aurora B/C n'est pas capable de déstabiliser les attachements dus à l'accumulation de PP2A qui contrecarre son activité. Ceci serait essentiel pour stabiliser les attachements corrects, cependant si des attachements incorrects persistent au-delà de cette fenêtre temporelle, ils ne peuvent plus être corrigés. Cela pourrait expliquer la persistance d'attachements incorrects en métaphase II observée dans plusieurs études.

Ainsi, l'ensemble des résultats que j'ai obtenus lors de ma thèse, ont permis de déposer un article sur BioRxiv et soumettre une publication que je signe en premier auteur.

Prolonged metaphase II arrest weakens Aurora B/C- dependent error correction in mouse oocytes

Antoine Langeoire^{1,2,3}, Alison Kem-Seng^{2,3,4}, Damien Cladière^{1,2,3}, Katja Wassmann^{1,2,3*} and Eulalie Buffin^{1,2,3*}

¹ Université Paris Cité, CNRS, Institut Jacques Monod, 75013 Paris, France

² Institut de Biologie Paris Seine, Sorbonne Université, 75252 Paris, France

³ CNRS UMR7622, Developmental Biology Lab, Sorbonne Université, 75252 Paris, France

⁴ Present address: Department of Biology, McGill University, Montréal, QC, Canada.

*: corresponding authors, eulalie.buffin@sorbonne-universite.fr, katja.wassmann@ijm.fr

ABSTRACT

Chromosome segregation during oocyte meiosis is highly error prone in mammals. Whereas control mechanisms at work during meiosis I have been studied quite extensively, our knowledge of these mechanisms in meiosis II is rather limited. The spindle assembly checkpoint (SAC) and error correction (EC) have to be adapted to the specificities of meiosis II, where attachments to the spindle are bipolar, and not monopolar. Additionally, errors occurring during meiosis I, are carried over into meiosis II. In this study we asked whether oocytes in meiosis II have the capacity to respond to attachments that are under less tension. We found that this was indeed the case, and Aurora B/C-dependent EC through SAC activation can mediate a metaphase delay. We also found that during the extended metaphase II arrest, necessary to await fertilization, spindle tension naturally decreases. However, this occurs concomitantly with a decrease in the sensitivity of EC due to an increase in PP2A at centromeres, with the result that only oocytes in early but not late metaphase II can respond to missing spindle tension.

INTRODUCTION

The formation of haploid gametes, which is essential for sexual reproduction, requires two consecutive meiotic divisions, with no S-phase in between. First, homologous chromosomes are segregated in meiosis I, followed by meiosis II with the segregation of sister chromatids. Meiosis must be carried out precisely to produce embryos with the correct ploidy after fertilization. Aneuploidy in the embryo is mainly due to mis-segregation events in the oocyte and is the leading cause of miscarriage, infertility and birth defects in humans (Hassold & Hunt, 2001; Nagaoka & Hassold, 2013; Charalambous *et al*, 2023). Why female meiosis is highly error-prone is still a matter of debate, and possible explanations have been discussed in recent reviews (Kitajima, 2018; Mihajlovi & Fitzharris, 2018; Yakoubi & Wassmann, 2017; Charalambous *et al*, 2023).

Mammalian oocytes enter meiosis after premeiotic S-phase. During prophase I, homologous chromosomes recombine and are held together by the resulting chiasmata, forming a bivalent. Oocytes remain arrested in prophase I and only resume meiosis at sexual maturity following hormonal stimulation. Nuclear envelope breakdown, also known as GVBD (Germinal Vesicle Breakdown) is followed by the formation of a bipolar spindle. In mammalian oocytes, spindle assembly is a long process (4-6h in mouse) leading to the attachment of homologous chromosomes to the opposite poles of the spindle, with the sister kinetochores co-orienting to the same pole (Schuh & Ellenberg, 2007; Dumont & Desai, 2012). Chromosomes first attach laterally to microtubules, slide along the surface of the spindle towards the equator, and establish end-on microtubule attachments through the NDC80 complex located at kinetochores. Because initial attachments are often incorrect, they must be destabilized to give the microtubules a chance to re-attach correctly. Aurora B and the meiosis-specific Aurora C kinase are the enzymatic subunits of the Chromosomal Passenger Complex (CPC), which localizes at the centromere and interchromatid axis in meiosis I and promotes microtubule turnover at the kinetochore (Cairo *et al*, 2023; Avo Santos *et al*, 2011; Nguyen & Schindler, 2017; Balboula & Schindler, 2014; Tang *et al*, 2006). Thus, in meiosis I, bipolar attachments of homologous chromosomes are achieved after multiple rounds of Aurora B/C-dependent correction of faulty attachments (Kitajima *et al*, 2011; Kitajima, 2018).

In mitosis, it was shown that the kinetochore-microtubule (KT-MT) interaction is controlled by the phosphorylation state of the NDC80 subunit Hec1, which anchors the microtubule plus ends to the kinetochore. KT-MT interactions are destabilized by Aurora B phosphorylation of Hec1 and stabilized by PP2A-B56-mediated dephosphorylation of Hec1 (DeLuca *et al*, 2006, 2011; Welburn *et al*, 2010; Foley *et al*, 2011; Tang *et al*, 2016; Keating *et al*, 2020). The balance between Aurora B and PP2A-B56 activities is thought to depend on the tension that is generated between sister kinetochores when the opposing forces exerted by microtubules are in equilibrium. This spatial separation model proposes that the inter-kinetochore tension separates centromeric Aurora B from the kinetochore and reduces its ability to phosphorylate Hec1 and to destabilize KT-MT interaction. This model explains, at least in part, how Aurora B selectively destabilizes incorrect attachments, which are characterized by unbalanced pulling forces on sister kinetochores (Kitajima, 2018; McVey *et al*, 2021; Lampson & Cheeseman, 2011; Liu *et al*, 2009).

In meiosis I, since sister kinetochores are mono-oriented and pulled in the same direction, tension is not generated between the sister kinetochores as in mitosis or meiosis II, but between sister kinetochore pairs, and thus within kinetochores and across the entire bivalent chromosome. Even though this co-orientation of sister kinetochores may affect the tension-sensing mechanism, reducing tension in metaphase I induces Hec1 phosphorylation by Aurora B/C, and Spindle Assembly Checkpoint (SAC) activation as a consequence of microtubule detachment, as we have shown previously in mouse oocytes (Vallot *et al*, 2018). But Aurora B/C persists in the vicinity of kinetochores even after biorientation and bivalent stretching, potentially preventing attachment stabilization. It has been proposed that attachment stabilization is mainly mediated by the progressive accumulation of PP2A-B56 phosphatase at kinetochores during meiosis I (Yoshida *et al*, 2015).

After homologous chromosome segregation in anaphase I, followed by first polar body extrusion, oocytes immediately enter meiosis II without entering S-phase. The transition from meiosis I to meiosis II, called interkinesis, is characterized by partial chromosome decondensation and the absence of a bipolar spindle. After interkinesis, spindle assembly in mouse oocyte meiosis II takes place within 1 hour, and is thus strikingly faster than in meiosis I (Kouznetsova *et al*, 2019; Dumont *et al*, 2007). In vertebrate oocytes, including mammals, meiosis arrests again at metaphase II, with sister chromatids attached in a bipolar fashion, in contrast to meiosis I (Petronczki *et al*, 2003). This cell cycle arrest, maintained by

CSF (Cytostatic Factor) activity, persists until fertilization takes place. Sperm entry triggers sister chromatid segregation, second polar body extrusion, and eventually zygote formation upon fertilization (Ozturk, 2022). Since mammalian oocytes are arrested in metaphase II until fertilization, they should have more time to correct faulty chromosome attachments. However, 20% of chromosomes are misaligned in mouse metaphase II arrested oocytes, suggesting that some incorrect attachments are not detected and thus, not corrected in meiosis II (Kouznetsova *et al*, 2019). In addition, meiosis II has to deal with segregation errors carried over from meiosis I. In this respect, it is important to note that in mouse oocytes, single sister chromatids resulting from precocious separation in meiosis I are not efficiently recognized in meiosis II and escape error correction and SAC activation (Kouznetsova *et al*, 2014). Therefore, it is essential to better understand how correct attachments are achieved during meiosis II, and why errors occur.

Here, to investigate the efficiency of the error correction pathway in meiosis II, we asked whether tension-less attachments can be detected and corrected in meiosis II. Unexpectedly, we found that after prolonged arrest in metaphase II, the inter-kinetochore (inter-KT) tension is naturally reduced while chromosomes are correctly bioriented and aligned. Further reducing tension at this time does not promote Aurora B/C-dependent microtubule detachment, or SAC activation, in contrast to reducing tension at an earlier stage. We conclude that when oocytes are kept arrested in metaphase II to await fertilization, attachments, even incorrect ones, are stabilized by PP2A-B56 accumulating at the kinetochore and counteracting Aurora B/C, regardless of the level of tension. This may explain the persistence of misaligned chromosomes in metaphase II oocytes, eventually contributing to high aneuploidy rates.

RESULTS

Chromosomes continue to align correctly in metaphase II

First, to define when oocytes are in metaphase II, we characterized spindle reformation and chromosome alignment after anaphase I by time-lapse microscopy in mouse oocytes expressing H2B-RFP and Tubulin-GFP (Fig1A-B). In our strain background, chromosomes segregate in anaphase I approximately 7 h after GVBD. After polar body extrusion,

chromosomes appear partially decondensed but remain close together, even though the spindle did not reassemble yet. This transition phase (interkinesis) lasts for about 1 h. Then, chromosomes condense again, begin to individualize, and the metaphase II spindle assembles rapidly, mainly by nucleating microtubules from the chromosomes. Chromosomes start to align at the equator around 10 h after GVBD. Visualization of a metaphase plate defines the transition from prometaphase II to metaphase II, even though chromosomes continue to oscillate throughout the metaphase II arrest (Fig1A-B, Movie1). To determine more precisely when chromosome alignment is achieved, we quantified the number of unaligned chromosomes in fixed oocytes at different times in meiosis II (Fig1C-D). We observed that the percentage of oocytes containing unaligned chromosomes decreases with time from 75% at 12 h to 11% at 18 h after GVBD. As our protocol included a short cold treatment to remove unstable microtubules prior to spindle fixation, we confirmed that the same percentage of unaligned chromosomes was observed without cold treatment (FigS1A-B). This is consistent with previous results, which reported that incorrect attachments persist until metaphase II arrest (Kouznetsova *et al*, 2019). In this study, oocytes are considered to be in metaphase II around 2.5 h after anaphase I when the equatorial plate become visible. Accordingly, and based on our observations, we considered that oocytes at 12 h after GVBD (5 h after anaphase I) are in early metaphase II, with most but not all chromosomes aligned at the metaphase plate. On the other hand, we considered oocytes as arrested in late metaphase II at 18 h after GVBD (11 h after anaphase I) when better alignment was achieved, as indicated by the reduction in metaphase plate width (FigS1C-D).

Proper chromosome alignment does not correlate with high tension in late metaphase II

Chromosome alignment depends on attachment status (correct (bipolar) or incorrect, such as monopolar or merotelic) as well as balance of forces exerted by microtubules on each sister kinetochore. We therefore expected that chromosome alignment would correlate with increased tension between sister kinetochores. Indeed, it has already been observed that inter-KT distance, a measure commonly used to estimate the tension applied on sister kinetochore pairs, increased from prometaphase II to early metaphase II (Kouznetsova *et al*, 2019). Surprisingly, we observed here that once oocytes are in metaphase II, the inter-KT distance progressively decreased from 2.3 μm at 12 h to 1.4 μm at 18 h after GVBD instead

of increasing as expected (Fig1E-F). In other words, in oocytes arrested in late metaphase II and awaiting fertilization, attachments are naturally under less tension than in early metaphase II oocytes.

The striking reduction of tension in late metaphase II has not been described before and could be explained, at least in part, by increased spindle stability. Indeed, we have shown that the spindle becomes more resistant to depolymerization by cold treatment at 18 h after GVBD compared to 12 h (FigS1E-F). Since microtubule dynamics contribute to the pulling forces exerted on kinetochores, increased microtubule stability would reduce inter-KT tension similar to what has been observed upon hyperstabilization of spindles in mitosis by taxol treatment (Maresca & Salmon, 2009; Ye *et al*, 2016). This observation however raises the question of how incorrect attachments may get recognized and selectively destabilized if correct attachments also lack tension in late metaphase II.

The SAC is functional throughout metaphase II

We have shown that inter-KT tension naturally decreases in late metaphase II, even though most chromosomes are correctly bioriented and aligned. Thus, these tension-less attachments should not be corrected to allow proper completion of meiosis II upon fertilization. Consequently, the SAC or the CPC should be turned off in late metaphase II to prevent oocytes from recognizing tension-less attachments as incorrect and thus destabilizing even correct attachments. However, the SAC and the CPC need to be active in early metaphase II, when unaligned chromosomes are still present, to allow their correction. Therefore, we first asked whether the SAC remains functional in late metaphase II and whether it is able to block anaphase II onset upon nocodazole-induced missing attachments. To assess SAC activity, we monitored APC/C-dependent degradation of exogenously expressed Securin-YFP. *In vivo*, anaphase II is induced by fertilization, which can be mimicked *in vitro*, by activating oocytes with strontium treatment (Fig2A). In the absence of nocodazole, Securin-YFP was degraded, whereas this was not the case after addition of nocodazole either in early or late metaphase II, showing that the SAC is functional and can be activated efficiently upon gross loss of kinetochore attachments (Fig2B; FigS2A-B; Movies 2 and 3). Accordingly, the SAC protein Mad2, which was almost completely absent from kinetochores in control oocytes, was recruited to unattached kinetochores after

depolymerization of microtubules with nocodazole in both early and late metaphase II, indicating that the SAC is well functional at both time points (Fig2C-D). This result shows that the SAC retains its functionality in late metaphase II and could theoretically be activated if tension-less attachments are released by the destabilizing activity of Aurora B/C.

Low tension in early metaphase II induces SAC activation in an Aurora B/C-dependent way

Since the SAC is functional in early and late metaphase II, we hypothesized that the tension-sensing mechanism itself is inefficient to sense and thus correct tension-less attachments in late metaphase II. But turning off the tension-sensing mechanism too early runs the risk of leaving some errors uncorrected. Therefore, we tested first CPC functionality in early metaphase II, when some unaligned chromosomes persist. STLC, an inhibitor of the kinesin Eg5, was used to provoke tension-less attachments in early metaphase II (Skoufias *et al*, 2006). By promoting the pole-separating forces required for spindle bipolarization, Eg5 contributes to the pulling forces on kinetochores (Schuh & Ellenberg, 2007; Mailhes *et al*, 2004). In meiosis I, Eg5 inhibition by STLC induced shorter spindles and reduced chromosome bivalent stretching between pairs of sister kinetochores (Vallot *et al*, 2018). As expected, also in meiosis II, STLC reduced spindle length and inter-KT distance in early metaphase II, confirming the efficiency of Eg5 inhibition (FigS3A-B).

To investigate whether low tension can induce microtubule detachment by the CPC, we asked whether anaphase onset is delayed as a result of SAC activation. Timing of anaphase onset was determined by following sister chromatid segregation in H2B-RFP-expressing oocytes by live imaging (Fig2A). When control oocytes were activated with strontium in early metaphase II (12 h after GVBD), 50% of oocytes segregated sister chromatids within 2 h after strontium addition (Fig2E, G - dotted red curve). Crucially, when STLC was added in early metaphase II, anaphase II was strongly delayed: only 30% of STLC-treated oocytes segregated sister chromatids within 5 h after addition of strontium (Fig2E, G - solid red curve; FigS2C; Movie 4). Accordingly, the SAC protein Mad2 was recruited to kinetochores when oocytes were treated with STLC, confirming that the SAC is activated upon reduced tension (Fig2C-D). Moreover, after inhibition of the essential SAC protein Mps1 with the drug reversine, STLC-treated oocytes were now able to enter anaphase II after strontium addition, due to override of the SAC. Sister chromatids segregated even earlier than in control

oocytes, supporting that the SAC is still active and is delaying cell cycle progression in early metaphase II control oocytes (Fig2E - solid grey curve; FigS2C; Movie 4). Thus, the SAC is well activated after inducing low tension in early metaphase II, suggesting that tension-less attachments can be detected and destabilized in early metaphase II.

Next, we asked whether the anaphase delay observed after artificially reducing tension in early metaphase II, requires CPC activity. In STLC-treated oocytes, Securin-YFP degradation was delayed compared to control oocytes (Fig2F - red curves; Fig S3D). After inhibition of Aurora B/C with AZD1152, STLC-treated oocytes were able to degrade Securin-YFP without delay, indicating APC/C activation and SAC satisfaction in early metaphase II (Fig2F - dotted grey curve; FigS3D, Movie 5). Of note, in this last experiment, we chose to follow Securin-YFP degradation as an indicator of anaphase onset, because Aurora B/C inhibition perturbs sister chromatid segregation, making anaphase II onset more difficult to visualize. Thus, artificially reducing tension in early metaphase II prevents anaphase II from occurring only when Aurora B/C is active. This suggests that tension-less attachments promote Aurora B/C-dependent error correction. As a result, the SAC is activated and blocks anaphase II onset, similar to meiosis I, as we have shown previously (Vallot *et al*, 2018).

Low tension in late metaphase II does not induce SAC activation

We have shown that in early metaphase II, artificial reduction of tension can be detected efficiently by Aurora B/C and can induce a SAC-dependent delay of anaphase II onset. However, we also found that inter-KT tension naturally decreases in late metaphase II when chromosomes are correctly aligned. This implies that attachments under low tension in late metaphase II should not be recognized as incorrect attachments, otherwise they would be destabilized. Thus, we hypothesized that error correction is turned off in late metaphase II to preserve correct attachments.

To address this issue, we treated oocytes in late metaphase II with STLC to determine whether low tension induces a SAC-dependent anaphase II delay after activation with strontium (Fig2A). As expected, STLC reduced spindle length in late metaphase II oocytes, confirming the efficiency of Eg5 inhibition (FigS3C). However, because tension was already low in late metaphase II, STLC does not further reduce inter-KT distance (FigS3D). To assess error correction in late metaphase II under the same experimental conditions as before in

early metaphase II, we compared untreated late metaphase II oocytes with natural low tension, with oocytes at the same cell cycle stage treated with STLC. When STLC was added in late metaphase II, 50% of oocytes segregated sister chromatids 40-50 min after strontium addition, similar to untreated control oocytes activated in late metaphase II (Fig2G - blue curves; FigS3E; Movie6). Anaphase II is therefore induced rapidly, even after STLC treatment in late metaphase II oocytes. Thus, tension-less attachments do not promote SAC activation in late metaphase II. Accordingly, the SAC protein Mad2 remained at low levels on most kinetochores when oocytes were treated with STLC in late metaphase II (Fig2C-D).

Our results indicate that even though the SAC is functional in early and late metaphase II, it is not activated in late metaphase II, when inter-KT tension is physiologically low. Artificially decreasing tension in early metaphase II leads to a SAC dependent delay, but has no effect in late metaphase II. Our results suggest that there is a temporal window during which low tension can be detected and induce SAC activation. This window coincides with the presence of a significant number of unaligned chromosomes in early metaphase II. In late metaphase II, when most chromosomes are correctly aligned, naturally occurring low tension is tolerated and becomes thus unable to activate the SAC.

Aurora B/C-dependent error correction in late metaphase II is not efficient enough to promote microtubule detachment

Artificial low tension in early metaphase II can induce SAC activation but natural low tension in metaphase II cannot, suggesting that Aurora B/C-dependent error correction is efficient enough to promote microtubule detachment in early metaphase II but not in late metaphase II. To confirm when tension-less attachments promote destabilization of KT-MT interactions in metaphase II, we investigated whether adding STLC affected Aurora B/C-dependent phosphorylation of Hec1 on Serine 55, which serves as a read-out of MT destabilization and ongoing error correction in mitosis (DeLuca *et al*, 2011). The level of Hec1 phosphorylation was similar in early and late metaphase II control oocytes, suggesting that most attachments are already stabilized in early metaphase II, although some unaligned chromosomes persist (Fig3A-B). It is reasonable to assume that unaligned chromosomes show higher Hec1 phosphorylation, however, we did not compare Hec1 phosphorylation between aligned and unaligned chromosomes here. Crucially, treating oocytes with STLC in early metaphase II

increased Hec1 phosphorylation much more than in late metaphase II (Fig3A-B). This result confirms that tension-less attachments are indeed destabilized in early metaphase II, consistent with the observed SAC activation and anaphase delay. In contrast, tension-less attachments in late metaphase II are not sufficiently destabilized to activate the SAC.

Higher PP2A levels at kinetochores stabilize tension-less attachments in late metaphase II

The level of Hec1 phosphorylation results from the balance between Aurora B/C kinase and PP2A-B56 phosphatase activities. The overall failure to phosphorylate Hec1 on Serine 55 in late metaphase II may be due to a shift in the balance towards more PP2A-B56, compared to early metaphase II. More PP2A-B56 activity may counteract Aurora B/C-dependent phosphorylation of Hec1 in late metaphase II, as already shown in meiosis I (Yoshida *et al*, 2015). Hence, we compared PP2A levels in early and late metaphase II. PP2A is localized at kinetochores around the centromeric ACA staining, and also between sister centromeres (Fig4A), similar to Sgo2 (Gryaznova *et al*, 2021). Indeed, levels of total PP2A were significantly higher in late than in early metaphase II, and weakly affected by STLC at both cell cycle stages (Fig4A-B). We also confirmed that the pool of PP2A located at kinetochores, which is most likely the one dephosphorylating Hec1, is increased in late metaphase II (Fig4C). We conclude that PP2A accumulates at kinetochores during metaphase II and antagonizes Aurora B/C activity, ultimately stabilizing kinetochore attachments in late metaphase II independently of low tension.

Incorrect attachments on monopolar spindles can be corrected in early and late metaphase II

Based on our results, we hypothesized that incorrect attachments can be corrected in early metaphase II but not in late metaphase II. To verify this hypothesis, we artificially created incorrect attachments in early and late metaphase II by using high doses of STLC, producing monopolar spindles. On these monopolar spindles, all sister chromatids are attached to the same pole, and therefore, are under low tension. To determine whether these monopolar attachments can be corrected, oocytes were released from STLC treatment, to allow spindle bipolarization. After STLC removal, the time required for chromosomes to detach, reattach

and align at the metaphase plate was measured by time-lapse microscopy in oocytes expressing H2B-RFP and Tubulin-GFP. We used the timing of chromosome realignment as a read out for error correction efficiency. Of note, similar experiments have been performed in mitosis to study the mechanisms underlying error correction (Lampson *et al*, 2004). If error correction is functional, Aurora B/C should promote destabilization and correction of monopolar attachments, and chromosomes should realign correctly. We expected functional error correction in early but not late metaphase II, where high levels of PP2A were expected to stabilize monopolar attachments. Surprisingly though, after STLC removal, monopolar attached sister chromatids were able to correctly align even more efficiently in late than in early metaphase II (Fig5A; FigS4A; Movie7). This suggests that microtubules were able to detach and establish correct bipolar attachments to sister chromatids even in late metaphase II. Thus, under these experimental conditions, the high levels of PP2A in late metaphase II are not sufficient to stabilize monopolar attachments. One hypothesis is that monopolar spindles may promote more efficient phosphorylation of Aurora B/C targets and error correction. Indeed, it has been shown that Aurora A, localized at spindle poles, can contribute to phosphorylate the same substrates as Aurora B/C on kinetochores that are closer to the poles when sister chromatids are bioriented (Chmátal *et al*, 2015; Ye *et al*, 2015; DeLuca *et al*, 2017). Overall, our data show that the error correction system is still functional in late metaphase II, at least to correct the most severe errors leading to complete loss of tension, such as generated by a monopolar spindle.

The duration of chromosome alignment is critical for attachment stability

Although error correction is able to correct monopolar attachments, we have shown that it is not efficient enough to correct bipolar tension-less attachments in late metaphase II, presumably because of high levels of PP2A. We hypothesized that the "age" of the spindle and therefore the "age" of KT-MT attachments, would affect the efficiency of error correction. In this case, KT-MT interactions can be efficiently corrected shortly after sister chromatid biorientation, but not after a longer period, regardless of oocytes being in early or late metaphase II. If this hypothesis is true, *de novo* establishment of KT-MT interactions should allow error correction in late metaphase II, while "old" KT-MT interactions would not. To induce *de novo* KT-MT attachments without using harsh drug treatment such as

nocodazole, late metaphase II oocytes were exposed to a 30 min cold treatment to depolymerize spindles. After depolymerization, oocytes were returned to 37°C to allow spindles to repolymerize. We observed that bipolar spindles reform and chromosomes align within 1 h (FigS4B; Movie8). Next, we compared the effect of reducing tension with STLC, immediately or 6 h after spindle reformation and realignment of chromosomes, in late metaphase II. When STLC was added immediately after chromosome alignment (1 h after return to 37°C), anaphase II was delayed compared to control oocytes (Fig5B, FigS4C, Movie 9). This indicates that shortly after spindle reformation, tension less-attachments are able to induce SAC activation even in late metaphase II. In contrast, when STLC was added 6 h after chromosome alignment (7 h after return to 37°C), anaphase II occurred without delay as in control oocytes (Fig5C, FigS4D, Movie 10). Thus, maintaining chromosome alignment for an extended period in late metaphase II reduces the ability to destabilize attachments in response to low tension, probably due to increasing PP2A accumulation. Indeed, cold treatment decreased PP2A at centromeres and inner centromeres. PP2A staining became more diffuse and displaced around chromosomes (FigS5). After return to 37°C, PP2A is restored at kinetochores within one hour. Overall, our results suggest that the duration of chromosome attachment on the bipolar spindle allows PP2A to accumulate and weaken error correction.

DISCUSSION

Meiosis II faces specific challenges such as dealing with segregation errors carried over from meiosis I, or maintaining sister chromatid biorientation for an extended period of time during metaphase II arrest. Thus, the tension-sensing mechanism supposed to detect attachment errors, should be required in meiosis II to prevent post-fertilization aneuploidy. We show here that, once established, inter-KT tension naturally decreases between early and late metaphase II. During metaphase II arrest, chromosomes must remain aligned to the bipolar spindle for hours until fertilization. The time window during which fertilization can take place, before postovulatory aging and oocyte deterioration occur, is quite long (10-12 h post-ovulation in the mouse, and 24 h in human oocytes) (Di Nisio *et al*, 2022; Fissore *et al*, 2002). There is probably no need to maintain high spindle tension throughout the whole length of metaphase II arrest. Instead, relaxing tension in late metaphase II may allow the

oocyte to save energy and may also be important to protect chromosomes from possible breakage due to hard pulling over a long period of time.

As inter-KT tension decreases between early and late metaphase II, it is reasonable that the error correction pathway had to adapt to prevent constant activation, and ongoing destabilization of correct attachments in late metaphase II. Our data demonstrate that SAC functionality is well preserved throughout metaphase II, but that oocytes are only able to correct attachments during a limited temporal window. Tension-less attachments are well detected by the Aurora B/C-dependent error correction pathway in early metaphase II, but escape error correction in late metaphase II. We show that oocytes turn off error correction in late metaphase II by shifting the balance between PP2A and Aurora B/C in favor of PP2A. PP2A-B56 recruitment to kinetochores is mediated by the SAC components BubR1 and Mps1, and we have previously shown that at least Mps1 remains associated with kinetochores in anaphase II (Gryaznova *et al*, 2021), supporting that PP2A is continuously recruited to kinetochores throughout metaphase II arrest. We propose that in late metaphase II, low tension is better tolerated because of the accumulation of more PP2A counteracting Aurora B/C. Consistent with this conclusion, complete spindle depolymerization in late metaphase II resets PP2A levels and allows tension-less attachments to be corrected again on a freshly reformed spindle. Our results also highlight a major difference between meiosis I and meiosis II since low tension allows Aurora B/C to counteract PP2A in metaphase I (Vallot *et al*, 2018), but not in late metaphase II. This could be explained by differences in PP2A levels, which are much higher in metaphase II than in metaphase I (Yoshida *et al*, 2015). Indeed, PP2A occupies a much larger area in metaphase II arrested oocytes compared to metaphase I. In metaphase II, more than 14 hours after GVBD, PP2A can be found at kinetochores around centromeres, and between sister centromeres, whereas in meiosis I PP2A is only found in between sister centromeres (Chambon *et al*, 2013; Gryaznova *et al*, 2021). We propose that the strong PP2A staining observed in late metaphase II serves mainly to counteract error correction on tension-less, but correct attachments.

As a trade-off, errors that are not repaired early in metaphase II, should persist in late metaphase II. Unexpectedly, late metaphase II oocytes very efficiently converted monopolar

into bipolar attachments, thus demonstrating not only that they are capable of error correction, but also, that they recognize missing tension in the context of a monopolar spindle. Several hypotheses could explain why missing tension is detected on monopolar but not bipolar spindles. The monopolar geometry of sister kinetochores may be more favorable for destabilization of KT-MT interactions by Aurora B/C than the bipolar geometry of sister kinetochores under low tension. Another explanation could be that in the monopolar spindle configuration, attachments are removed by Aurora A-dependent destabilization activity, localized at the poles. Indeed, Aurora A has been shown to locally phosphorylate Hec1 on kinetochores near poles, contributing to destabilize incorrect attachments (Chmátal *et al*, 2015; Ye *et al*, 2015; DeLuca *et al*, 2017). The combined activity of Aurora A at poles and Aurora B/C at kinetochores may be more efficient to counteract PP2A on monopolar spindles, where chromosomes are found closer to the poles. Also, error correction may just become less sensitive with time spent in metaphase II arrest, such that a small reduction of spindle tension is tolerated, but upon gross reduction of tension such as on monopolar spindles, oocytes are still able to detach and reattach microtubules.

Overall, our data using mouse oocytes show a higher susceptibility of late metaphase II oocytes to maintain incorrectly attached chromosomes when efficient fertilization is still possible *in vivo* and *in vitro*. Importantly, in mouse and human oocytes, segregation errors in meiosis II increase with maternal age, due to an increase in misaligned chromosomes, the prevalence of single chromatids, or loss of kinetochore integrity (Shomper *et al*, 2014; Battaglia *et al*, 1996; Zielinska *et al*, 2019; Kouznetsova *et al*, 2022; Webster & Schuh, 2017). Thus, turning off error correction in late metaphase II would have more severe consequences in oocytes from aged mice or older women, since there would be more errors to deal with, and likely more errors persisting until late metaphase II. Importantly, oocytes from aged mice fail to correct aberrant attachments that are under less tension in metaphase II, supporting the inefficiency of error correction (Kouznetsova *et al*, 2022). Thus, error correction seems to be functional sufficiently long enough for correct segregation in oocytes that are not facing additional challenges, such as increased maternal age for example. Insights into the functionality of error correction relative to the time spent in metaphase II arrest as well as maternal age may contribute to better determine the optimal

temporal window for fertilization in human oocytes to minimize aneuploidies and at the same time, achieve optimal fertilization rates (Chen *et al*, 2023).

MATERIALS AND METHODS

Animals

Female CD-1 mice aged 8 weeks were purchased (Janvier, France) and maintained with *ad libitum* access to food and water in the conventional mouse facility of UMR7622 (authorization C75-05-13), IBPS (authorization A75-05-24) and UMR7592 (authorization C75-13-17). The project was approved by an ethical review under French law (authorization B-75-1308). Mice were not exposed to any drug treatment or procedure before being sacrificed by cervical dislocation between 8 and 16 weeks of age.

Mouse oocyte culture

After dissection of ovaries, oocytes were collected in M2 medium (home-made) supplemented with dibutyl cyclic AMP at 100 µg/mL (Sigma-Aldrich, D0260) to maintain GV arrest. When necessary, GV-arrested oocytes were injected with specific mRNAs. After several washes in M2 medium without dbcAMP, oocytes undergoing synchronous GVBD within 90 minutes were used for experiments. After GVBD, *in vitro* maturation was performed in drops of M16 medium (home-made or MERK Millipore) covered with mineral oil (FUJIFILM France-Medical Business, 9305) and incubated at 38°C in a CO₂ incubator. Experiments were performed in meiosis II after polar body extrusion. Anaphase II can be induced by activating metaphase II arrested oocytes with strontium chloride. In this case, oocytes are incubated in CaCl₂-free M2 medium (home-made) for 30-60 min and transferred to CaCl₂-free M2 containing 100 mM of strontium chloride (Sigma-Aldrich, 204463).

Drug treatment

The following drugs were dissolved in DMSO (Sigma-Aldrich, D2650) and were used at the indicated final concentrations in M2 medium: STLC 1 µM or 4 µM (S-Trityl-L-cystein, Sigma-Aldrich, 164739), Nocodazole 0,4 µM (Sigma-Aldrich, M1404), AZD1152-HQPA 0,5 µM (Sigma-Aldrich, SML0268), Reversine 0,5 µM (Interchim, 10004412).

Fixation of whole oocyte or chromosome spread

The zona pellucida surrounding the oocyte was dissolved in successive drops of Tyrode's acid solution (home-made). Fixation of whole oocytes was performed as described in Vallot et al.

2019. Oocytes were transferred to glass bottom chambers coated with concanavalin A (Sigma-Aldrich) in M2 medium containing PVP (Polyvinylpyrrolidone, Merk Millipore) before slow centrifugation at 1400 rpm for 13 min at 38°C. For spindle staining, oocytes were subjected to cold treatment for 6 min in 80mM Pipes, 1mM MgCl₂ in a dish placed on ice. Oocytes were fixed for 30 min in BRB80 buffer containing 0.3% Triton-100X and 1.9% formaldehyde (Sigma-Aldrich F1635). After washes with PBS 1X, oocytes were permeabilized and saturated overnight at 4°C in PBS 1X, 3% BSA, 0.1% Triton-X100. For chromosome spreads, oocytes were fixed in a hypotonic solution (H₂O, 1% paraformaldehyde (Sigma-Aldrich 441244), 0.15% Triton-X100, 3 mM DTT), which allows the membrane to dissolve and the chromosomes to spread on a 10-well slide (Fischer Scientific-10588681).

Immunostaining

After saturation with PBS 1X, 3% BSA, fixed whole oocytes or chromosome spreads were incubated with primary antibodies for 2-3 h, washed and incubated with secondary antibodies for 1h30, at room temperature. The following antibodies were used at the indicated concentrations: Human anti-centromere protein antibody (ACA, Clinisciences, 15-234-0001, 1:100), mouse monoclonal anti- α Tubulin conjugated with FITC (DM1A, Sigma-Aldrich, F2168, 1:100), rabbit polyclonal anti-Hec1pS55 (Euromedex, GTX70017, 1:100), rabbit polyclonal anti-Mad2 (1:100) (Wassmann & Benezra, 1998), mouse monoclonal anti-PP2A C-subunit clone 1D6 conjugated with Alexa Fluor 488 (Sigma-Aldrich, 05-421-AF488, 1:50). Anti-human Cy3 (Jackson ImmunoResearch, 709-166-149, 1:200), anti-rabbit AF 488 (Jackson ImmunoResearch, 711-546-152, 1:200), anti-mouse AF488 (Jackson ImmunoResearch, 715-546-150, 1:200). Slides were mounted using VECTASHIELD mounting medium supplemented with DAPI (Eurobio H-1200).

***In vitro* transcription and oocyte microinjection**

H2B-RFP, Securin-YFP or Tubulin-GFP coding sequences inserted into the pRN3 plasmid were used for *in vitro* transcription. Plasmids were digested with SfiI restriction enzyme, and the resulting linearized plasmid was purified by phenol/chloroform purification. *In vitro* transcription was performed by using the mMessage mMachine T3 Kit (Invitrogen, AM1348). After 2 h of transcription, mRNAs were purified by using the RNeasy Mini Kit (Qiagen, 74104).

Purified mRNAs were injected into GV-arrested oocytes using a FemtoJet microinjector pump (Eppendorf) with continuous flow, on an inverted Nikon Eclipse Ti microscope. Microinjection pipettes were made by pulling capillaries (Harvard Apparatus, 30-0038) with a magnetic puller (Narishige, PN-31) and oocytes were manipulated using a holding pipette (Eppendorf, 5178108.000).

Image acquisition and live imaging

Chromosome spreads and fixed whole oocytes were observed on an inverted Zeiss Axiovert 200M microscope, coupled to an EMCCD camera (Evolve 512, Photometrics) and a Yokogawa CSU-X1 spinning disc, with a 100X/1.4 NA oil objective. 6-10 Z-sections spaced by 0,4 μm were acquired for chromosome spreads and 25-30 Z-sections spaced by 0,4 μm were acquired for whole oocytes.

Live imaging was performed at 38°C on the same microscope with a 63X/1.4NA oil objective (Figure 1A, and Figure S4A-B) or on a Nikon Eclipse TE2000-E inverted microscope coupled to a PrecisExite High PowerLED fluorescence, a Prime sCMOS camera and a Plan APO 20X/0.75 NA objective (Figure S2, and Figure S4C-D). 15 Z sections spaced by 3 μm were acquired every 10 min. When indicated, chromosomes are stained with SirDNA 1 μM (far-red DNA labelling probe, TEBU BIO, 251SC007) added in the culture medium 1 h prior to imaging.

All Images were acquired with Metamorph software using the same setting for all conditions and replicated experiments. Movies, composites and image projections were generated on Fiji software (NIH). The quantifications have been realized on SUM projections. Brightness and contrast were adjusted equally to all compared conditions.

Quantification and statistical analysis

Quantifications were performed by using Fiji software. For quantifications on chromosome spread (Mad2, pS55Hec1, PP2A), a circle of 10x10 pixels was placed around each centromere. Background signal was measured in a second circle placed on chromosome next to the centromeres. The mean fluorescence intensities were measured on sum projections for channels corresponding to the protein of interest and to ACA. After background subtraction, the mean fluorescence intensities were normalized on ACA signals from the same centromere. In figures 4B and S5, the mean fluorescence intensities of PP2A were measured in areas selected manually including centromeres and inner centromere.

Fluorescence intensities were plotted on a graphic by using GraphPad Prism 6 software, and statistical analysis were performed by using nonparametric Mann-Whitney U-test (ns: not significant, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$) and include at least two independent experiments.

For quantification of Securin-YFP on time-lapse, mean fluorescence intensities were measured in a square of 100x100 pixels placed in the oocyte. Background signal was measured in a second square placed outside of the oocyte. Mean intensities were measured on the max projection for each time point of the time-lapse. After background subtraction, the mean fluorescence intensities of Securin-YFP were normalized on the t_0 value of the time-lapse.

For quantification of spindle Tubulin on fixed whole oocytes (FigS1F), the integrated densities of tubulin were measured in an ellipse placed around the entire spindle. Background signals were measured in a second ellipse next to the spindle. Integrated densities were measured on sum projections of oocytes before and after a cold treatment for 10 min. After background subtraction, the ratio between integrated density after cold treatment relative to before cold treatment were calculated for each oocyte.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Sandra Touati and Aude Dupré for discussion and comments on the manuscript. We thank Anastasia Shihabi and Maya Merabet for experiments during their undergraduate internships, and members of the MOM group for advices and discussions. AL received a 1-year PhD fellowship from the Labex Who Am I (ANR-11-LABX-0071; Idex ANR-18-IDEX-0001). The KW Lab was funded by the Agence Nationale de la Recherche (ANR-19-CE13-0015), La Fondation de la Recherche Médicale (Equipe FRM DEQ 202103012574) and core funding by the CNRS, Université Paris Cité and Sorbonne Université.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest associated with this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Experiments were performed by A.L, A.K-S and E.B. Figures were prepared by E.B. The manuscript was written by E.B. with help from K.W. and input from all authors. Funding was obtained by K.W, supervision and project administration were done by E.B. and K.W.

REFERENCES

- Avo Santos M, Van De Werken C, De Vries M, Jahr H, Vromans MJM, Laven JSE, Fauser BC, Kops GJ, Lens SM & Baart EB (2011) A role for Aurora C in the chromosomal passenger complex during human preimplantation embryo development. *Human Reproduction* 26: 1868–1881
- Balboula AZ & Schindler K (2014) Selective disruption of aurora C kinase reveals distinct functions from aurora B kinase during meiosis in mouse oocytes. *PLoS Genet* 10: e1004194
- Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA & Soules MR (1996) Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum Reprod* 11: 2217–22
- Cairo G, Greiwe C, Jung GI, Blengini C, Schindler K & Laceyfield S (2023) Distinct Aurora B pools at the inner centromere and kinetochore have different contributions to meiotic and mitotic chromosome segregation. *Mol Biol Cell* 34: ar43
- Chambon JP, Touati SA, Berneau S, Cladière D, Hebras C, Groeme R, McDougall A & Wassmann K (2013) The PP2A inhibitor I2PP2A is essential for sister chromatid segregation in oocyte meiosis II. *Current Biology* 23: 485–490
- Charalambous C, Webster A & Schuh M (2023) Aneuploidy in mammalian oocytes and the impact of maternal ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 24: 27–44
- Chen J, Wang Y, Fang C & Li T (2023) A 3–4 h oocyte retrieval-ICSI interval optimizes clinical outcomes for women over 40 years. *Sci Rep* 13: 15035
- Chmátal L, Yang K, Schultz RM & Lampson MA (2015) Spatial Regulation of Kinetochore Microtubule Attachments by Destabilization at Spindle Poles in Meiosis I. *Current Biology* 25: 1835–1841
- DeLuca JG, Gall WE, Ciferri C, Cimini D, Musacchio A & Salmon ED (2006) Kinetochore Microtubule Dynamics and Attachment Stability Are Regulated by Hec1. *Cell* 127: 969–982
- DeLuca KF, Lens SMA & DeLuca JG (2011) Temporal changes in Hec1 phosphorylation control kinetochore-microtubule attachment stability during mitosis. *J Cell Sci* 124: 622–634
- DeLuca KF, Meppelink A, Broad AJ, Mick JE, Peersen OB, Pektas S, Lens SMA & DeLuca JG (2017) Aurora A kinase phosphorylates Hec1 to regulate metaphase kinetochore-microtubule dynamics. *J Cell Biol* 217: jcb.201707160
- Dumont J & Desai A (2012) Acentrosomal spindle assembly and chromosome segregation during oocyte meiosis. *Trends Cell Biol* 22: 241–9
- Dumont J, Petri S, Pellegrin F, Terret ME, Bohnsack MT, Rassinier P, Georget V, Kalab P, Gruss OJ & Verlhac MH (2007) A centriole- and RanGTP-independent spindle assembly pathway in meiosis I of vertebrate oocytes. *Journal of Cell Biology* 176: 295–305
- Fissore R, Kurokawa M, Knott J, Zhang M & Smyth J (2002) Mechanisms underlying oocyte activation and postovulatory ageing. *Reproduction*: 745–754
- Foley EA, Maldonado M & Kapoor TM (2011) Formation of stable attachments between kinetochores and microtubules depends on the B56-PP2A phosphatase. *Nat Cell Biol* 13: 1265–1271
- Gryaznova Y, Keating L, Touati SA, Cladière D, El Yakoubi W, Buffin E & Wassmann K (2021) Kinetochore individualization in meiosis I is required for centromeric cohesin removal in meiosis II. *EMBO J* 40: 1–19
- Hassold T & Hunt P (2001) To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* 2: 280–91.

- Keating L, Touati SA & Wassmann K (2020) A PP2A-B56-Centered View on Metaphase-to-Anaphase Transition in Mouse Oocyte Meiosis I. *Cells* 9: 390
- Kitajima TS (2018) Mechanisms of kinetochore-microtubule attachment errors in mammalian oocytes. *Dev Growth Differ* 60: 33–43
- Kitajima TS, Ohsugi M & Ellenberg J (2011) Complete kinetochore tracking reveals error-prone homologous chromosome biorientation in mammalian oocytes. *Cell* 146: 568–581
- Kouznetsova A, Hernandez-Hernandez A & Hoog C (2014) Merotelic attachments allow alignment and stabilization of chromatids in meiosis II oocytes. *Nat Commun* 5: 4409
- Kouznetsova A, Kitajima TS, Brismar H & Höög C (2019) Post-metaphase correction of aberrant kinetochore-microtubule attachments in mammalian eggs. *EMBO Rep* 20
- Kouznetsova A, Liu JG, Valentinienė S, Brismar H & Höög C (2022) Age-dependent aneuploidy in mammalian oocytes instigated at the second meiotic division. *Aging Cell* 21
- Lampson MA & Cheeseman IM (2011) Sensing centromere tension: Aurora B and the regulation of kinetochore function. *Trends Cell Biol* 21: 133–40
- Lampson MA, Renduchitala K, Khodjakov A & Kapoor TM (2004) Correcting improper chromosomes-spindle attachments during cell division. *Nat Cell Biol* 6: 232–237
- Liu D, Vader G, Vromans MJM, Lampson MA & Lens SMA (2009) Sensing chromosome bi-orientation by spatial separation of Aurora B kinase from kinetochore substrates. *Science (1979)* 323: 1350–1353
- Mailhes JB, Mastromatteo C & Fuseler JW (2004) Transient exposure to the Eg5 kinesin inhibitor monastrol leads to syntelic orientation of chromosomes and aneuploidy in mouse oocytes. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 559: 153–167
- Maresca TJ & Salmon ED (2009) Intrakinetochore stretch is associated with changes in kinetochore phosphorylation and spindle assembly checkpoint activity. *Journal of Cell Biology* 184: 373–381
- McVey SL, Cosby JK & Nannas NJ (2021) Aurora B Tension Sensing Mechanisms in the Kinetochore Ensure Accurate Chromosome Segregation. *Int J Mol Sci* 22: 8818
- Mihajlovi AI & Fitzharris G (2018) Current Biology Review Segregating Chromosomes in the Mammalian Oocyte. 895–907
- Nagaoka SI & Hassold TJ (2013) Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age- old problem. *Nat Rev Genet* 13: 493–504
- Nguyen AL & Schindler K (2017) Specialize and Divide (Twice): Functions of Three Aurora Kinase Homologs in Mammalian Oocyte Meiotic Maturation. *Trends Genet* 33: 349–363
- Di Nisio V, Antonouli S, Damdimopoulou P, Salumets A & Cecconi S (2022) In vivo and in vitro postovulatory aging: when time works against oocyte quality? *J Assist Reprod Genet* 39: 905–918
- Ozturk S (2022) Molecular determinants of the meiotic arrests in mammalian oocytes at different stages of maturation. *Cell Cycle* 21: 547–571
- Petronczki M, Siomos MF, Nasmyth K, Correns C, Vries H De & Tscher- E (2003) Un Me´nage a` Quatre: The Molecular Biology of Chromosome Segregation in Meiosis. 112: 423–440
- Schuh M & Ellenberg J (2007) Self-Organization of MTOCs Replaces Centrosome Function during Acentrosomal Spindle Assembly in Live Mouse Oocytes. *Cell* 130: 484–498
- Shomper M, Lappa C & FitzHarris G (2014) Kinetochore microtubule establishment is defective in oocytes from aged mice. *Cell Cycle* 13: 1171–1179
- Skoufias DA, DeBonis S, Saoudi Y, Lebeau L, Crevel I, Cross R, Wade RH, Hackney D & Kozielski F (2006) S-trityl-L-cysteine is a reversible, tight binding inhibitor of the human

- kinesin Eg5 that specifically blocks mitotic progression. *Journal of Biological Chemistry* 281: 17559–17569
- Tang A, Shi P, Song A, Zou D, Zhou Y, Gu P, Huang Z, Wang Q, Lin Z & Gao X (2016) PP2A regulates kinetochore-microtubule attachment during meiosis I in oocyte. *Cell Cycle* 15: 1450–1461
- Tang CJC, Lin CY & Tang TK (2006) Dynamic localization and functional implications of Aurora-C kinase during male mouse meiosis. *Dev Biol* 290: 398–410
- Vallot A, Leontiou I, Cladière D, El Yakoubi W, Bolte S, Buffin E & Wassmann K (2018) Tension-Induced Error Correction and Not Kinetochore Attachment Status Activates the SAC in an Aurora-B/C-Dependent Manner in Oocytes. *Current Biology* 28: 130-139.e3
- Wassmann K & Benezra R (1998) Mad2 transiently associates with an APCp55Cdc complex during mitosis
- Webster A & Schuh M (2017) Mechanisms of Aneuploidy in Human Eggs. *Trends Cell Biol* 27: 55–68
- Welburn JPI, Vleugel M, Liu D, Yates JR, Lampson M a, Fukagawa T & Cheeseman IM (2010) Aurora B Phosphorylates Spatially Distinct Targets to Differentially Regulate the Kinetochore-Microtubule Interface. *Mol Cell* 38: 383–392
- Yakoubi W El & Wassmann K (2017) Cell Division Machinery and Disease. 1002: 1–17
- Ye AA, Cane S & Maresca TJ (2016) Chromosome biorientation produces hundreds of piconewtons at a metazoan kinetochore. *Nat Commun* 7: 1–9
- Ye AA, Deretic J, Hoel CM, Hinman AW, Cimini D, Welburn JP & Maresca TJ (2015) Aurora A Kinase Contributes to a Pole-Based Error Correction Pathway. *Current Biology* 25: 1842–1851
- Yoshida S, Kaido M & Kitajima TS (2015) Inherent Instability of Correct Kinetochore-Microtubule Attachments during Meiosis I in Oocytes. *Dev Cell* 33: 589–602
- Zielinska AP, Bellou E, Sharma N, Frombach AS, Seres KB, Gruhn JR, Blayney M, Eckel H, Moltrecht R, Elder K, *et al* (2019) Meiotic Kinetochores Fragment into Multiple Lobes upon Cohesin Loss in Aging Eggs. *Current Biology* 29: 3749-3765.e7

FIGURE LEGENDS

Figure 1

Proper chromosome alignment does not correlate with high tension in late metaphase II

(A) Oocytes injected with H2B-RFP and Tubulin-GFP mRNA were observed by time-lapse microscopy. Hours after Germinal Vesicle Breakdown (GVBD) are indicated. Scale bar: 20 μm .

(B) Timing of anaphase I, polar body extrusion (PBE), interkinesis, and first alignment of chromosomes in each oocyte from panel A. Median is indicated. The red and blue points correspond respectively to the three earliest and the three latest oocytes doing anaphase I. n: number of oocytes.

(C) Meiosis II oocytes were fixed at 12h, 14h, 16h or 18h after GVBD and stained with DAPI (blue) and anti-Tubulin antibody (green). Scale bar: 20 μm . Arrows indicate unaligned chromosomes.

(D) Percentage of oocytes containing 0, 1-2, or more than 2 unaligned chromosomes in the oocytes from panel C. n: number of oocytes.

(E) Magnification of sister chromatids stained with DAPI (blue), ACA (red) and anti-Tubulin antibody (green). Scale bar: 5 μm . The scheme represents two sister chromatids (blue), centromeres (red), and microtubule fibres (green). The double-headed arrows indicate inter-kinetochore distance.

(F) Inter-kinetochore (inter-KT) distances (μm) were measured in oocytes from panel C as indicated in E. Median and interquartile range are indicated. n: number of sister chromatid pairs.

Each graph includes the values of at least 3 independent experiments and p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$; ns: not significant).

Figure 2

Only in early metaphase II oocytes recognize missing tension in an Aurora B/C- and SAC-dependent manner

(A) Scheme of the experimental settings in the panels (B-G) below: oocytes were injected in GV (Germinal Vesicle) stage with the indicated mRNAs, released and re-synchronised at GVBD (Germinal Vesicle Breakdown). Meiosis II oocytes were submitted to drug treatment

as indicated, at 12h or 18h after GVBD. Then, oocytes were activated by addition of strontium (Str) and their ability to progress in anaphase II was analysed by time-lapse imaging.

(B) Oocytes injected with Securin-YFP mRNA were left untreated (Ctrl) or treated with nocodazole (Noc) for 1 h at GVBD+12h or GVBD+18h. After addition of strontium, the level of Securin-YFP was measured in each oocyte for each time point of the time-lapse. n: number of oocytes.

(C) Meiosis II oocytes were left untreated (Ctrl) or treated with Nocodazole (Noc) or STLC for 1 h, at GVBD+12h or GVBD+18h. Chromosomes were spread and stained with ACA (red), anti-Mad2 antibody (green) and DAPI (blue). Small images correspond to magnification of chromosomes. Scale bars: 10 μ m. n: number of oocytes.

(D) The mean intensity of Mad2 signal per centromere from (C) has been quantified and normalized on the mean intensity of ACA (AU: arbitrary unit). The values from 2 independent experiments are shown and median and interquartile range are indicated. p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$. n: number of centromeres.

(E) Oocytes injected with H2B-RFP mRNA were left untreated (Ctrl) or treated with STLC and/or reversine (Rev) at GVBD+12h for 1 h. After addition of strontium, the percentage of oocytes undergoing anaphase II relative to time after activation was determined by time-lapse microscopy. n: number of oocytes.

(F) Oocytes injected with Securin-YFP were left untreated (Ctrl) or treated with STLC alone, AZD1152 (AZD) alone, or with both STLC and AZD, at GVBD+12h for 1 h. After addition of strontium, the level of Securin-YFP was measured in each oocyte for each time point of the time-lapse. n: number of oocytes.

(G) Oocytes injected with H2B-RFP mRNA were left untreated (Ctrl) or treated with STLC at GVBD+12h or GVBD+18h for 1 h. After addition of strontium, the percentage of oocytes undergoing anaphase II relative to time after activation was determined by time-lapse microscopy. n: number of oocytes.

Figure 3

Low tension induces more Hec1 phosphorylation in early than in late metaphase II

(A) Meiosis II oocytes at 12h or 18h after GVBD were treated with STLC for 1 h where indicated, and chromosomes were spread and stained with ACA (red), anti-phosphoS55

Hec1 antibody (pHec1; green) and DAPI (blue). Small images correspond to magnification of chromosomes. Scale bar: 10 μ m. n is the number of oocytes.

(B) The mean intensity of pS55 Hec1 signal per centromere has been quantified and normalized to the mean intensity of ACA (AU: arbitrary unit). n is the number of centromeres analyzed from 3 independent experiments. Median and interquartile range are indicated. p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$, ns: not significant).

Figure 4

Centromeric PP2A accumulates to higher levels as oocytes progress into late metaphase II

(A) Meiosis II oocytes at 12h or 18h after GVBD were treated with STLC for 1 h where indicated, and chromosomes were spread and stained with ACA (red), anti-PP2A antibody (green) and DAPI (blue). Small images correspond to magnification of chromosomes. Scale bar: 10 μ m. n is the number of oocytes.

(B) The mean intensity of total PP2A signal including centromeres and inner centromeres has been quantified and normalized to the mean intensity of ACA (AU: arbitrary unit). n is the number of centromere pairs analyzed from 3 independent experiments. Median and interquartile range are indicated. p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$, * $p < 0,05$, ns: not significant).

(C) The mean intensity of centromeric PP2A signal (overlapping with ACA staining) has been quantified and normalized to the mean intensity of ACA (AU: arbitrary unit). n is the number of centromeres analyzed from 3 independent experiments. Median and interquartile range are indicated. p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$, ns: not significant).

Figure 5

Age of the bipolar spindle determines error correction efficiency

In (A) (B) (C), the scheme in the left illustrates the experimental protocol of the experiment.

(A) Oocytes were injected with H2B-RFP and Tubulin-GFP mRNAs at GV stage, and treated with elevated concentrations of STLC (4 μ M) at GVBD+12h or GVBD+18h to induce monopolar spindles. After 1 h, oocytes were washed to remove STLC. Bipolarization of the spindle and realignment of chromosomes were followed by time-lapse microscopy. On the

right, the time required for chromosome alignment after wash-out was quantified for each oocyte. *n* is the number of oocytes analyzed from 2 independent experiments. Median and interquartile range are indicated. *p* values have been calculated by using Mann-Whitney's test (** *p*<0.001).

(B-C) Oocytes were submitted to a cold treatment for 30 min in order to depolymerize spindles at GVBD+18h. Then, oocytes were incubated at 37°C in order to allow spindle repolymerization and chromosome realignment. After 1 h at 37°C in (B) or after 7 h at 37°C in (C), oocytes were treated with STLC for 1 h where indicated, and chromosomes were stained with SirDNA. After activation by addition of strontium, chromosome segregation was followed by time-lapse microscopy. On the right, the graphs represent the cumulative percentage of oocytes entering anaphase II relative to time after strontium addition for each condition. *n* is the number of oocytes analyzed from 3 independent experiments.

SUPPLEMENTAL FIGURE LEGENDS

Figure S1

During metaphase II, chromosomes progressively align and the spindle becomes more stable

(A) Meiosis II oocytes were fixed without pre-cold treatment at 12h or 18h after GVBD and stained with DAPI (blue) and anti-Tubulin antibody (green). Scale bar: 20 μm. (B) Percentage of oocytes containing 0, 1-2, or more than 2 unaligned chromosomes in oocytes from panel A. *n*: number of oocytes analysed in 1 representative experiment.

(C) Representative spindle image from figure 1C. The rectangle defines the metaphase plate and the double-headed arrow indicates how the metaphase plate width has been measured. (D) Metaphase plate width measured in each oocyte. Median and interquartile range are indicated. *n* is the number of oocytes analyzed from at least 3 independent experiments for each condition. *p* values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) *p*<0.0001, **p*<0.05, ns: not significant).

(E) Live oocytes previously injected with H2B-RFP and Tubulin-GFP mRNA were observed at 12h or 18h after GVBD, before and after a cold treatment of 10 min. Scale bar: 20 μm. (F) Tubulin density per spindle has been quantified before and after cold treatment in the same oocyte. The ratios of Tubulin after/before cold treatment for each oocyte are represented in

the graph. Median and interquartile range are indicated. n is the number of oocytes analyzed from 3 independent experiments. p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$).

Figure S2

Nocodazole and STLC delay anaphase II onset, but the latter only in early metaphase II

Montage of representative movies analyzed in Figure 2. The time after addition of strontium is indicated (h: min). Arrows indicate sister chromatid segregation and thus, anaphase II onset.

(A) Oocytes injected with Securin-YFP mRNA were left untreated (Ctrl), or treated at GVBD+12h with nocodazole (Noc) for 1 h, and activated by addition of strontium.

(B) Oocytes injected with Securin-YFP mRNA were left untreated (Ctrl) or treated at GVBD+18h with nocodazole (Noc) for 1 h and activated by addition of strontium.

(C) Oocytes injected with H2B-RFP mRNA were left untreated (Ctrl) or treated at GVBD+12h with STLC, +/- Reversine (Rev) for 1 h, and activated by addition of strontium.

(D) Oocytes injected with Securin-YFP mRNA were left untreated (Ctrl), or treated at GVBD+12h with STLC +/- AZD1152 (AZD) for 1 h, and activated by addition of strontium.

(E) Oocytes injected with H2B-RFP mRNA were left untreated (Ctrl) or treated at GVBD+18h with STLC for 1 h, and activated by addition of strontium.

Figure S3

Inhibiting Eg5 induces short spindle and low tension in meiosis II

(A-B) Meiosis II oocytes at 12h after GVBD (early metaphase II) were left untreated (Ctrl) or treated with STLC for 1 h, fixed and stained with DAPI (blue), anti-Tubulin antibody (green) and ACA (red). (A) The double-headed arrow indicates the spindle length. Scale bar: 20 μm . The graph shows the spindle length measured in each oocyte. Median and interquartile range are indicated. n: number of oocytes. (B) Magnifications on sister chromatid pairs of oocytes from A. The double-headed arrow indicates the inter-kinetochore distance. Scale bar: 5 μm . The graph shows inter-kinetochore (inter-KT) distances measured in each oocyte. Median and interquartile range are indicated. n: number of sister chromatid pairs.

(C-D) Meiosis II oocytes at 18h after GVBD (late metaphase II) were left untreated (Ctrl) or treated with STLC for 1 h, fixed and stained with DAPI (blue), anti-Tubulin antibody (green)

and ACA (red). (C) The double-headed arrow indicates the spindle length. Scale bar: 20 μm . The graph shows the spindle length measured in each oocyte. Median and interquartile range are indicated. n: number of oocytes. (D) Magnifications on sister chromatid pairs of oocytes from C. The double headed-arrow indicates the inter-kinetochore distance. Scale bar: 5 μm . The graph shows inter-kinetochore (inter-KT) distances measured in each oocyte. Median and interquartile range are indicated. n: number of sister chromatid pairs. Each graph includes the values of at least 3 independent experiments for each condition and p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$; ns: not significant).

Figure S4

Age of the bipolar spindle determines error correction efficiency

Montage of representative movies analyzed in Figure 5.

(A) Oocytes were injected with H2B-RFP and Tubulin-GFP mRNAs in GV stage, treated with STLC (4 μM) at GVBD+12h or GVBD+18h and washed to remove STLC. Movies were started immediately after wash-out, and time after wash-out is indicated. Bipolarization of the spindle and chromosome realignment (arrow) can be seen.

(B) Oocytes were injected with H2B-RFP and tubulin-GFP mRNAs in GV stage and incubated at 4°C for 30 min at GVBD+18h. Movies were started when oocytes were transferred to 37°C. Repolymerization of the spindle after depolymerization induced by cold treatment can be seen.

(C) Oocytes were incubated at 4°C for 30 min at GVBD+18h and transferred to 37°C for 1 h. Oocytes were treated with STLC for 1 h where indicated and chromosomes were stained with SirDNA before activation by addition of strontium. Movies were started after addition of strontium. Chromosome segregation can be seen (arrows).

(D) Oocytes were incubated at 4°C for 30 min at GVBD+18h and transferred to 37°C for 7 h. Oocytes were treated with STLC for 1 h where indicated and chromosomes were stained with SirDNA before activation by addition of strontium. Movies were started after addition of strontium. Chromosome segregation can be seen (arrows).

Figure S5

PP2A levels reset after spindle depolymerization

(A) Meiosis II oocytes at 18h after GVBD were cultured at 37°C (Ctrl), 4 °C for 30 min (after Cold), 1h at 37°C after 30 min at 4°C (1h after back to 37°C). Chromosomes were spread and stained with ACA (red), anti-PP2A antibody (green) and DAPI (blue). Small images correspond to magnification of chromosomes. Scale bar: 10 µm. n is the number of oocytes.

(B) The mean intensities of total PP2A signal including centromeres and inner centromeres have been quantified and normalized on the mean intensities of ACA (AU: arbitrary unit). n is the number of centromere pairs analyzed from 2 independent experiments. Median and interquartile range are indicated. p values have been calculated by using Mann-Whitney's test (***) $p < 0.0001$, ns: not significant).

SUPPLEMENTAL MOVIE LEGENDS

Movie1

Progression from metaphase I to metaphase II in control oocyte

Oocytes were injected with H2B-RFP and Tubulin-GFP mRNA at GV stage. Acquisitions of RFP and GFP channels were started at GVBD+6h (h:min) every 15 min. Shown is the overlay from a stack of 15 z-sections spaced by 3 µm of a representative movie from 23 oocytes obtained from 3 independent experiments (see Fig.1A).

Movie2

Visualization of Securin-YFP after activation in control and nocodazole treated oocytes in early metaphase II

Oocytes injected with Securin-YFP mRNA at GV stage were left untreated (Ctrl) or treated with Nocodazole (Noc) at GVBD+12h. Acquisitions in the YFP channel were started 20 min after activation by addition of strontium (GVBD+13h), with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 µm of representative

movies from 20 control and 17 nocodazole treated oocytes obtained from at least 3 independent experiments (see Fig2B and S2A).

Movie3

Visualization of Securin-YFP after activation in control and nocodazole-treated oocytes in late metaphase II

Oocytes injected with Securin-YFP mRNA at GV stage were left untreated (Ctrl) or treated with Nocodazole (Noc), at GVBD+18h. Acquisitions in the YFP channel were started 20 min after activation by addition of strontium (GVBD+19h), with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μm of representative movies from 16 control and 10 nocodazole treated oocytes obtained from at least 3 independent experiments (see Fig2B and S2B).

Movie4

Visualization of anaphase II after activation in control, STLC, and Reversine+STLC treated oocytes in early metaphase II

Oocytes injected with H2B-RFP mRNA at GV stage were left untreated (Ctrl) or treated with STLC or Reversine+STLC, at GVBD+12h. Acquisitions in the RFP channel were started 20 min after activation by addition of strontium (GVBD+13h), with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μm of representative movies from 35 control, 26 STLC and 37 Reversine+STLC treated oocytes obtained from at least 3 independent experiments (see Fig2E and S2C).

Movie5

Visualization of Securin-YFP after activation in control, STLC, and AZD+STLC treated oocytes in early metaphase II

Oocytes injected with Securin-YFP mRNA at GV stage were left untreated (Ctrl) or treated with STLC, or AZD+Reversine at GVBD+12h. Acquisitions in the YFP channel were started 20 min after activation by addition of strontium (GVBD+13h), with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μm of representative movies from 17 control, 13 STLC, and 17 AZD+STLC treated oocytes obtained from at least 3 independent experiments (see Fig2F and S2D).

Movie6

Visualization of anaphase II after activation in control and STLC-treated oocytes in late metaphase II

Oocytes injected with H2B-RFP mRNA at GV stage were left untreated (Ctrl) or treated with STLC at GVBD+18h. Acquisitions in the RFP channel were started 20 min after activation by addition of strontium (GVBD+19h), with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μ m of representative movies from 41 control, 46 STLC treated oocytes obtained from at least 3 independent experiments (see Fig2G and S2E).

Movie7

Visualization of spindle bipolarization after STLC wash-out in early and late metaphase II

Oocytes injected with H2B-RFP and Tubulin-GFP mRNA at GV stage were treated with STLC at 4 μ M at GVBD+12h (top) or GVBD+18h (bottom) for 1 h and washed to remove STLC. Acquisitions of RFP and GFP channels were started 20 min after wash-out, with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μ m of representative movies from 23 early and 15 late metaphase II oocytes obtained from 2 independent experiments (see Fig5A and S4A).

Movie8

Visualization of spindle reformation after cold treatment in late metaphase II

Oocytes injected with H2B-RFP and Tubulin-GFP mRNA at GV stage were submitted to cold treatment at GVBD+18h for 30 min and returned to 37°C. Acquisitions of RFP and GFP channels were started 10 min after return to 37°C, with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μ m of representative movies from 23 early and 15 late metaphase II oocytes obtained from 2 independent experiments (see Fig5B and S4B).

Movie9

Visualization of anaphase II after activation in control and STLC treated oocytes, 1 after spindle reformation in late metaphase II

Oocytes were submitted to cold treatment at GVBD+18h for 30 min and returned to 37°C. 1h after return to 37°C, oocytes were left untreated (Ctrl) or treated with STLC for 1 h. Oocytes were incubated with SirDNA to visualize chromosomes and activated with strontium. Acquisitions of RFP and GFP channels were started 20 min after activation, with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μm , of representative movies from 39 control and 33 STLC treated oocytes obtained from 3 independent experiments (see Fig5B and S4C).

Movie10

Visualization of anaphase II after activation in control and STLC treated oocytes 7h after newly spindle formation in late metaphase II

Oocytes were submitted to cold treatment at GVBD+18h for 30 min and returned to 37°C. 7h after return to 37°C, oocytes were left untreated (Ctrl) or treated with STLC for 1 h. Oocytes were incubated with SirDNA to visualize chromosomes and activated with strontium. Acquisitions of RFP and GFP channels were started 20 min after activation, with time points every 10 min (h: min). Shown are overlays from stacks of 15 z-sections spaced by 3 μm of representative movies from 31 control and 30 STLC treated oocytes obtained from 3 independent experiments (see Fig5C and S4D).

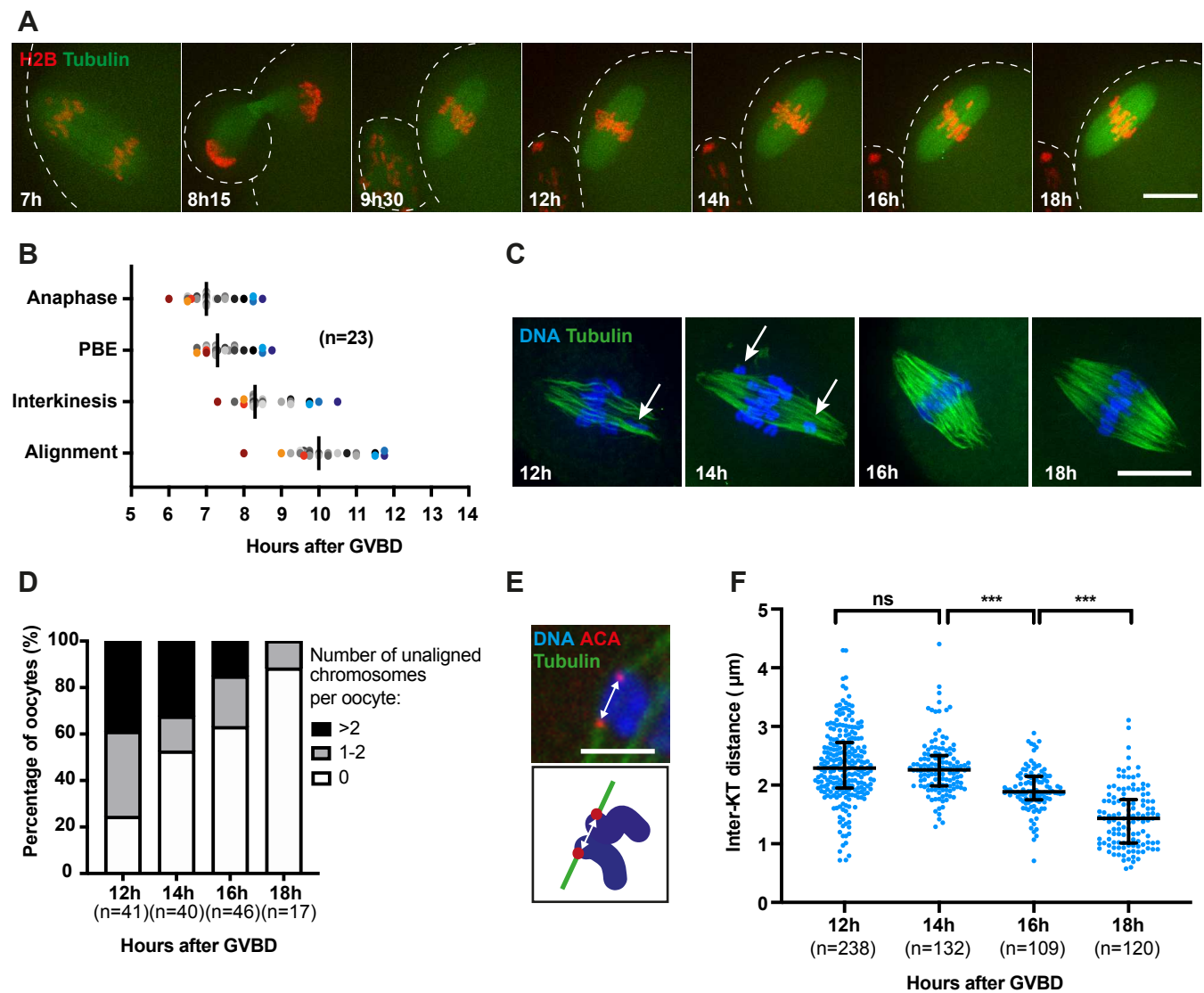


FIGURE 1

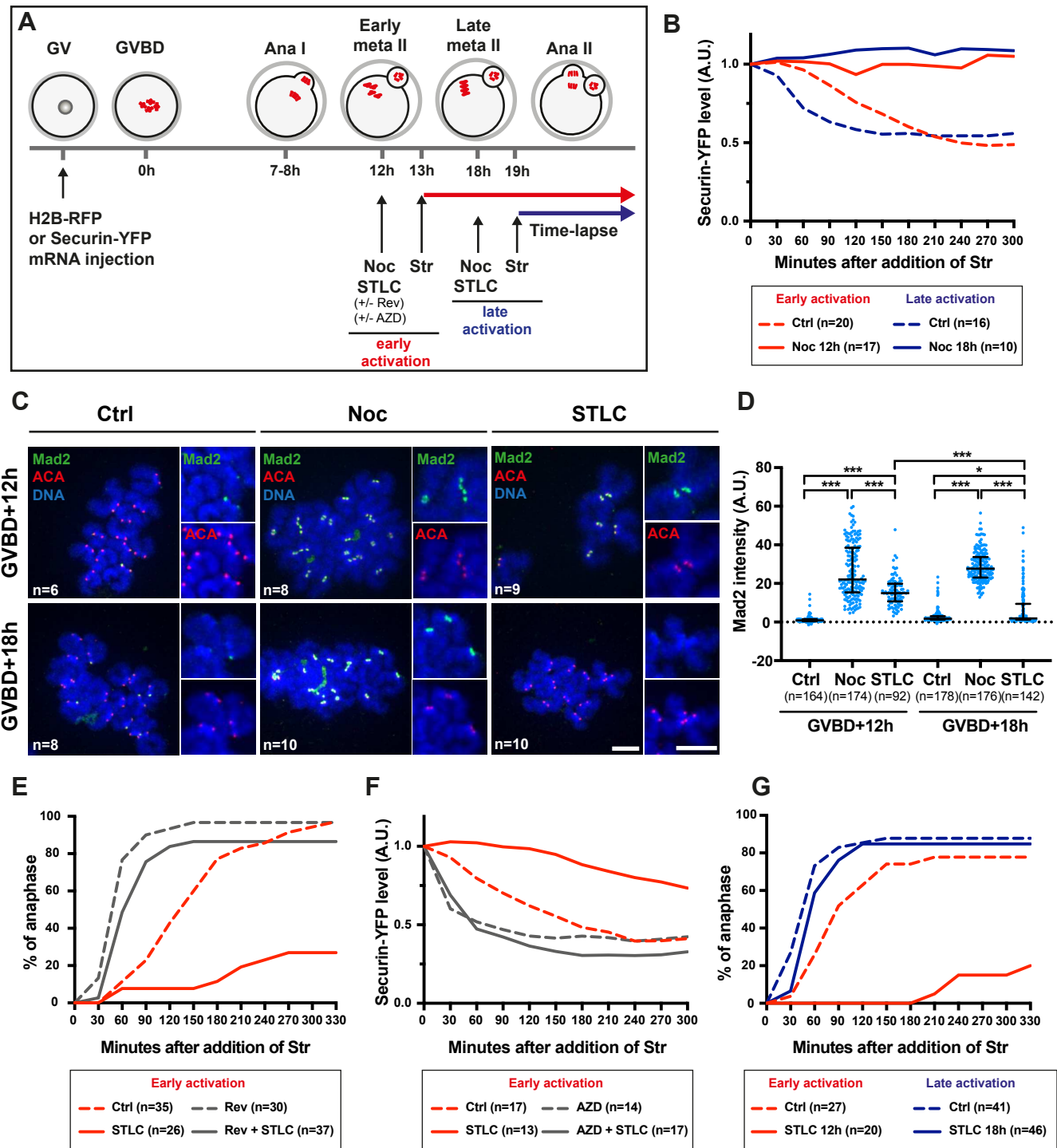


FIGURE 2

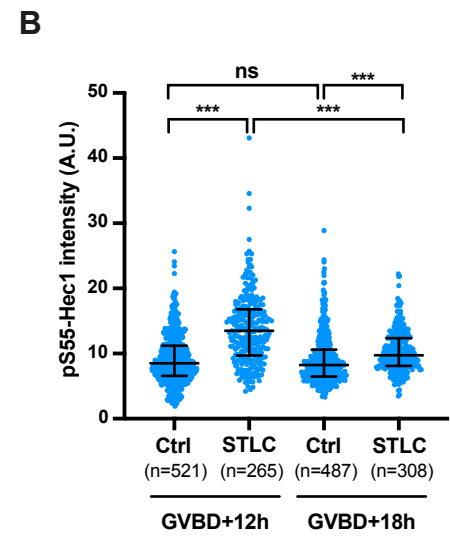
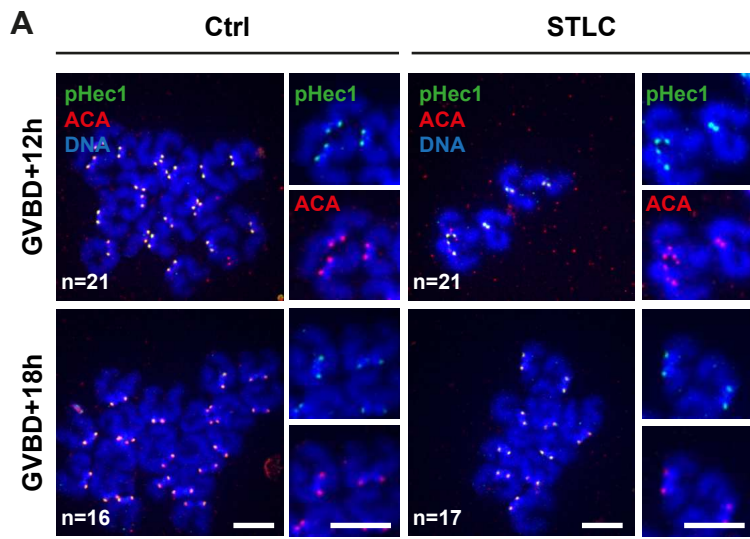


FIGURE 3

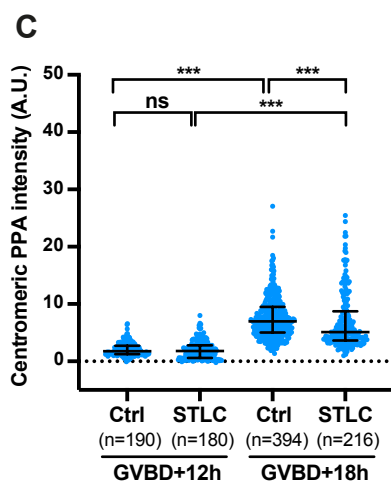
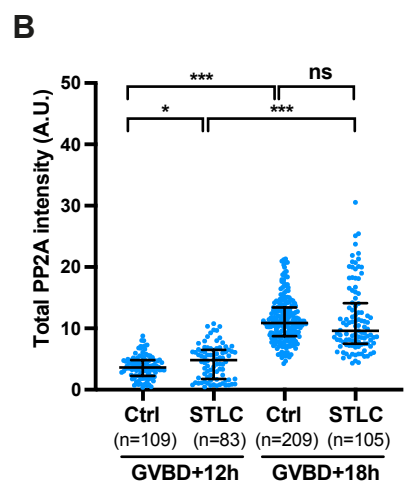
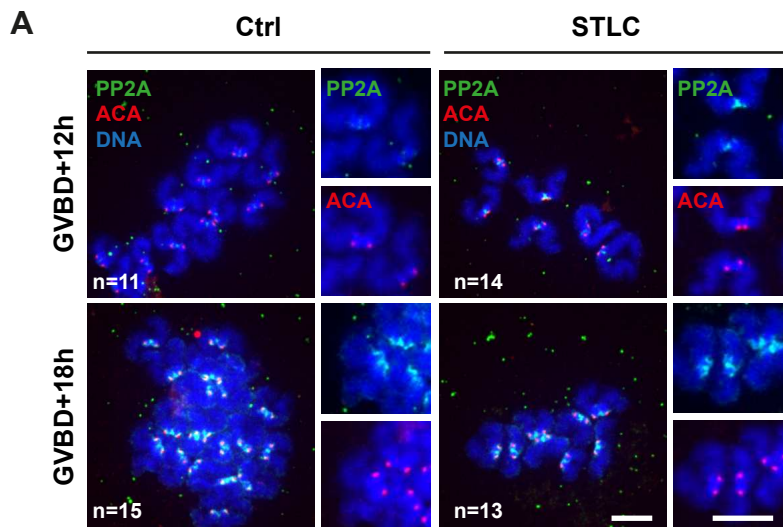


FIGURE 4

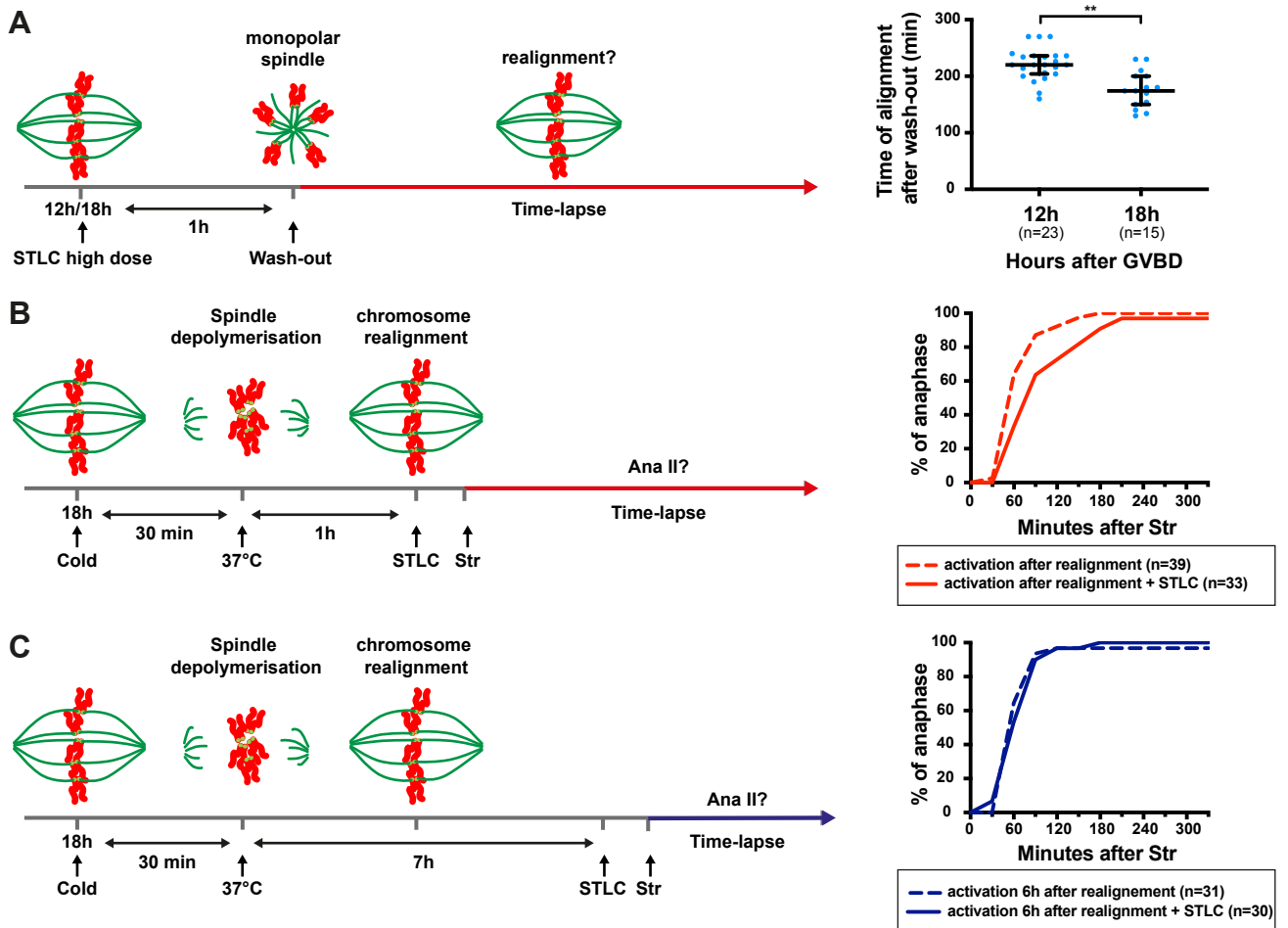


FIGURE 5

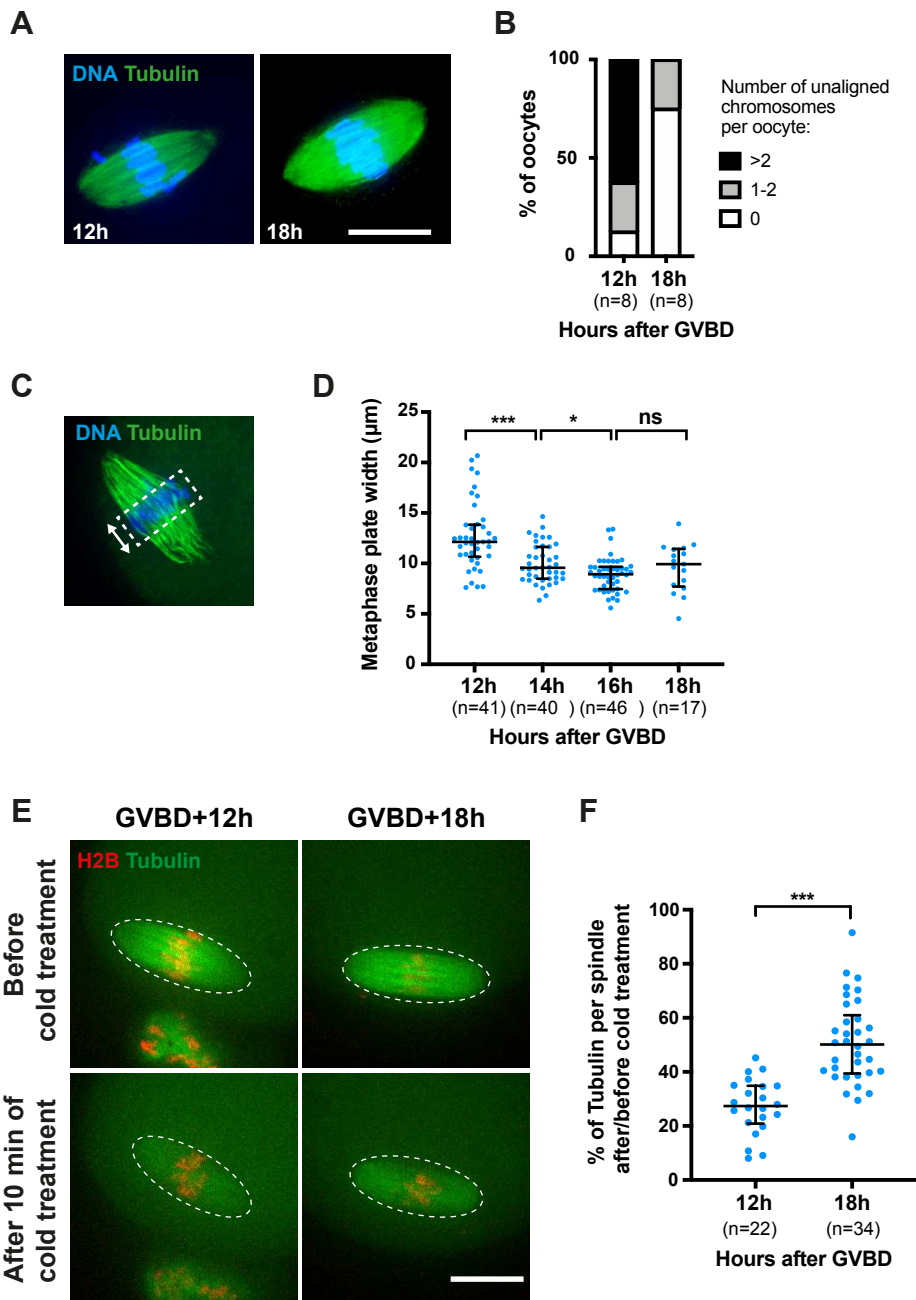


FIGURE S1

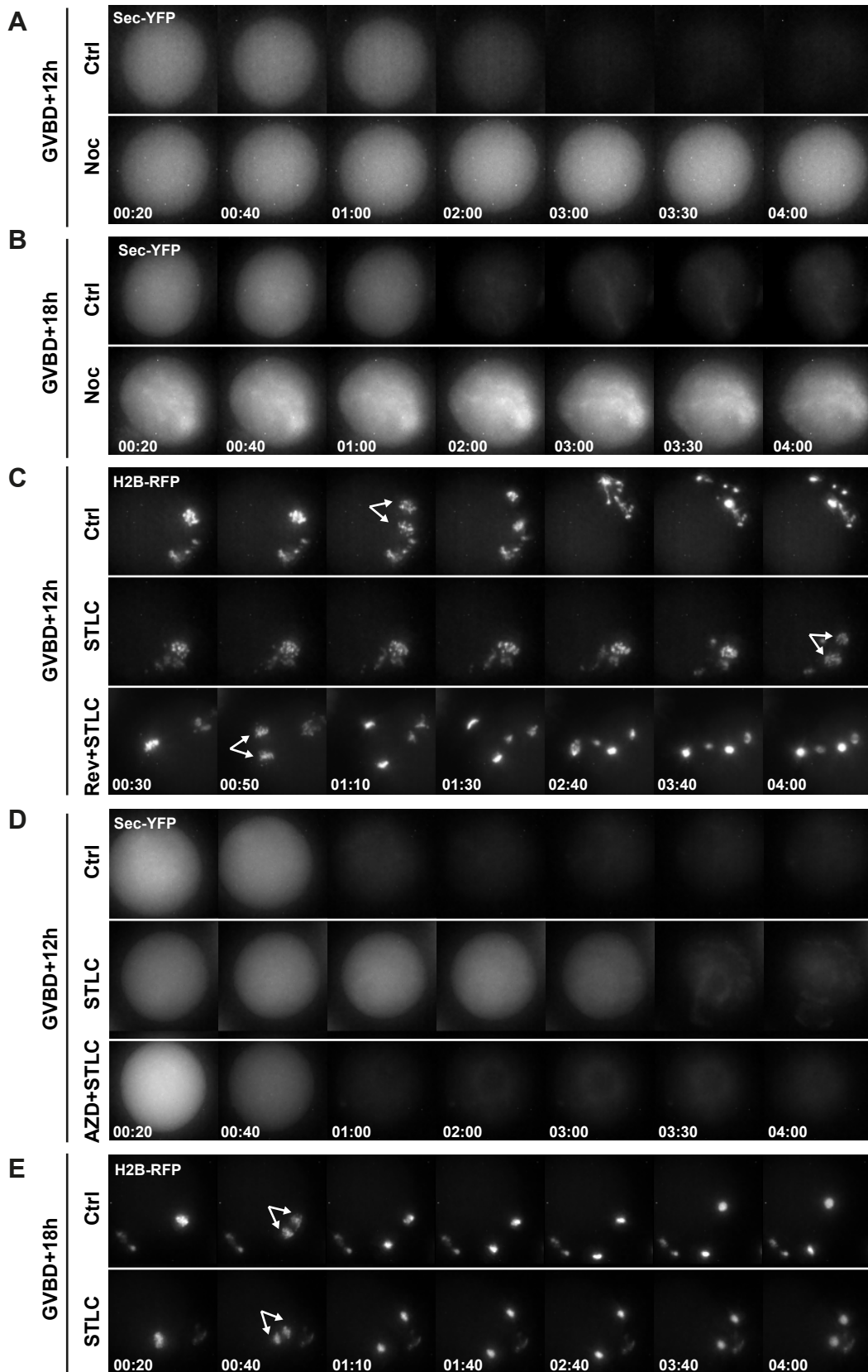


FIGURE S2

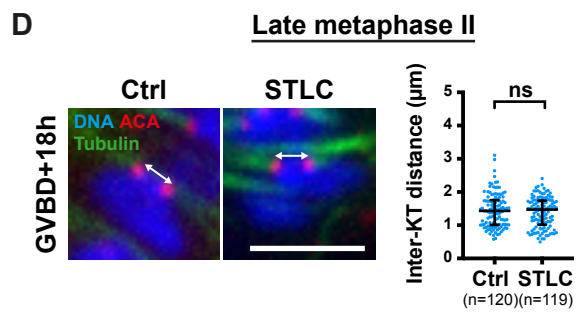
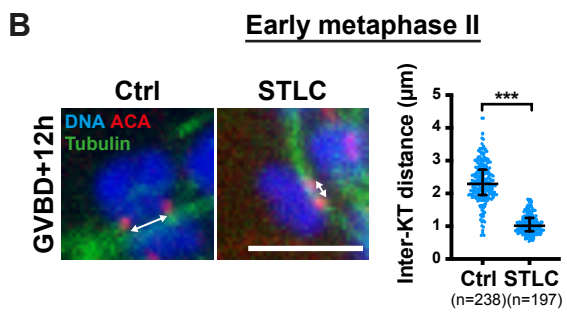
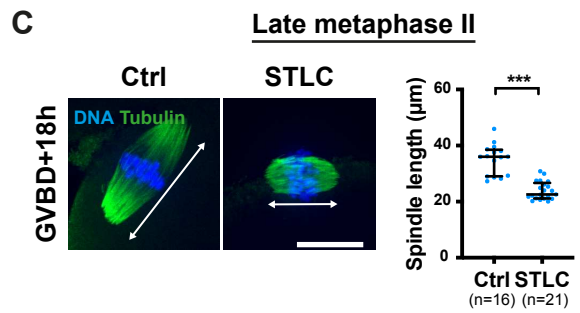
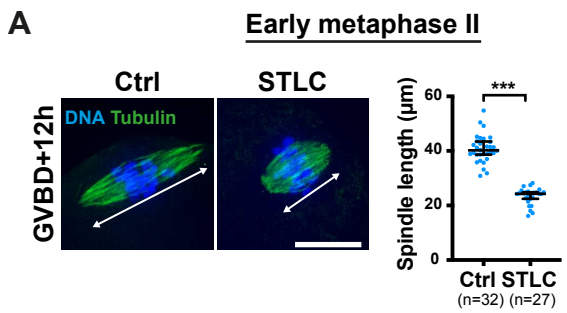


FIGURE S3

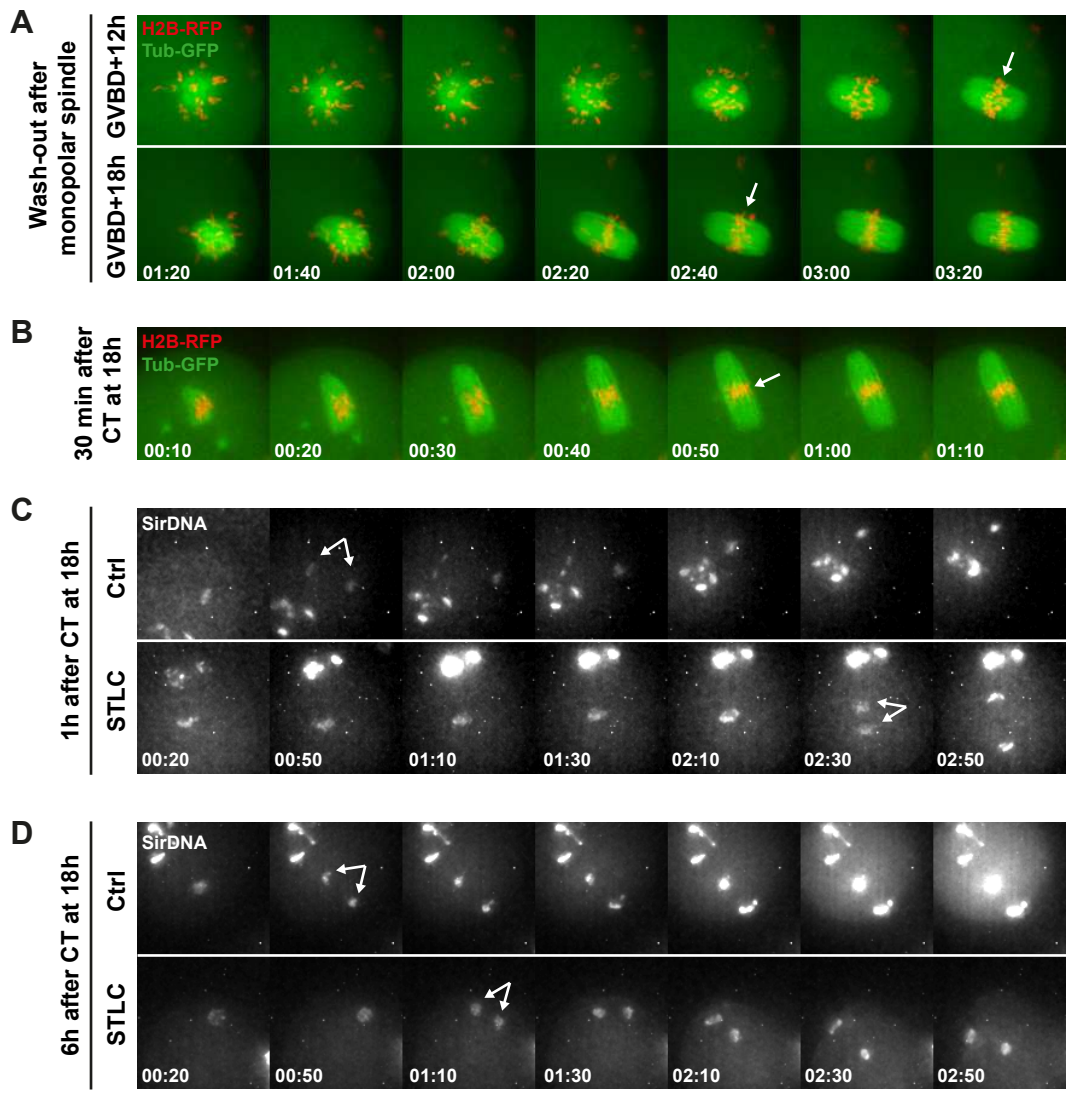
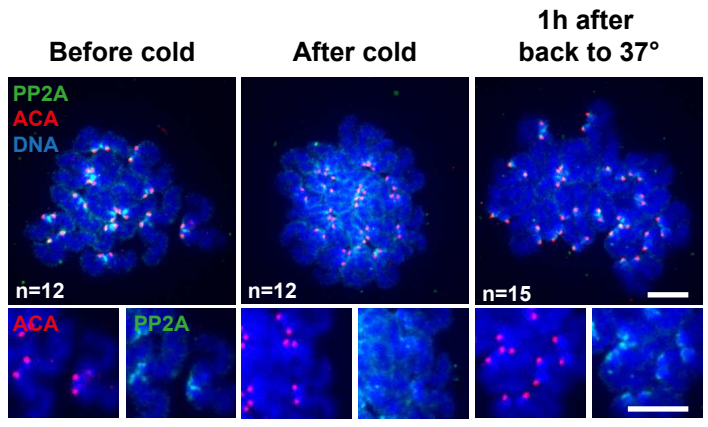
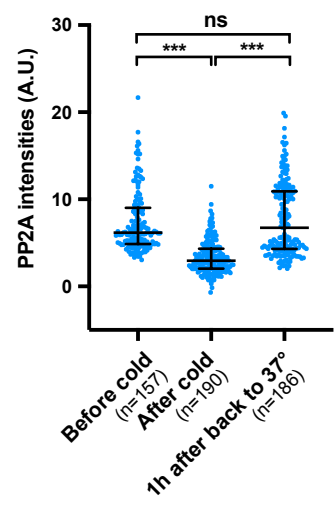


FIGURE S4

A**B****FIGURE S5**

Discussion

Afin de mieux comprendre l'origine des erreurs observées en méiose II, l'objectif de ma thèse a été de déterminer si le mécanisme de correction des erreurs est fonctionnel en métaphase II. Nos résultats ont montré qu'Aurora B/C est capable de détecter une tension réduite dans l'ovocyte de souris pendant une fenêtre temporelle limitée. Au-delà de cette fenêtre, si les ovocytes restent arrêtés plus longtemps en métaphase II, les erreurs d'attachement ne seraient plus corrigées et pourraient être responsable d'aneuploïdies.

A quel moment les ovocytes sont-ils en métaphase II ?

Nous avons estimé à quel moment les ovocytes sont en métaphase II en observant l'alignement des chromosomes. Bien que la plaque métaphasique commence à être visible à partir de 10h après GVBD, nous avons observé des chromosomes non alignés à 12h, pouvant suggérer que les ovocytes sont encore en prométaphase II. Cependant, Kouznetsova et al. qui ont suivi la dynamique des chromosomes pendant la méiose II dans l'ovocyte de souris, ont considéré que les ovocytes étaient en métaphase II environ 3h après l'anaphase I, correspondant environ à 10h après GVBD (Kouznetsova et al., 2019). Puisqu'en parallèle, nous avons observé une tension inter-KT élevée à 12h, nous avons décidé de considérer ces ovocytes en métaphase II précoce : même si certains chromosomes ne sont pas bien alignés, la majorité des chromosomes sont alignés et la plaque métaphasique est déjà visible. A 18h après GVBD, l'ensemble des chromosomes étant parfaitement alignés, nous avons considéré que les ovocytes étaient en métaphase II tardive.

Quel est l'intérêt physiologique d'une diminution naturelle de la tension en méiose II ?

Dans cette étude, nous avons caractérisé la tension au cours de la métaphase II. Nous pensions observer une augmentation progressive de la tension corrélée avec la bi-orientation et l'alignement des chromosomes sur la plaque équatoriale. Pourtant, la mesure de la distance inter-kinétochore a révélé une diminution progressive de la tension inter-KT au cours de la métaphase II. Cette diminution de la tension s'accompagne d'une augmentation de la stabilité des microtubules du fuseau en métaphase II tardive. Ainsi, les microtubules n'exerceraient plus les forces de traction sur les kinétochores générant la tension.

Dans l'ovocyte, les chromosomes doivent rester bi-orientés et alignés pendant un temps prolongé en métaphase II en attendant d'être fécondé. Cet arrêt peut durer 10-12h chez la souris, ou 24h chez l'homme. Il n'est donc probablement pas nécessaire de maintenir une tension élevée pendant tout ce temps. Nous pouvons imaginer que maintenir une tension élevée à long terme nécessite de l'énergie et pourrait être nocif pour l'intégrité des chromosomes. En effet, les cohésines sont-elles suffisamment robustes pour contenir cette tension à long terme ? Il est possible que réduire la tension pendant l'arrêt en métaphase II est nécessaire pour éviter la rupture des cohésines ou la rupture des bras des chromosomes. Enfin, une fois que les chromosomes sont correctement attachés et alignés, maintenir la tension devient « inutile » puisque la correction n'est plus requise. Il serait donc plus délétère de maintenir la tension élevée que d'affaiblir le mécanisme de correction en métaphase II tardive.

Comment le mécanisme de correction est affaibli en métaphase II tardive ?

Nos résultats montrent que le SAC est bien fonctionnel tout au long de la métaphase II mais que le mécanisme de correction des erreurs est capable de corriger les erreurs seulement pendant une fenêtre temporelle limitée. Une faible tension est bien détectée en métaphase II précoce et est capable de déstabiliser les attachements, résultant à l'activation du SAC et un retard de l'anaphase II. Ainsi, nous pouvons supposer, à partir du modèle décrit en mitose, qu'une tension réduite en métaphase II précoce rapproche Aurora B/C de ses substrats et favorise la phosphorylation de Hec1 et la déstabilisation de l'interaction KT-MT. A ce stade, l'activité phosphatase de PP2A n'arrive pas à contrecarrer l'activité d'Aurora B/C. Une tension réduite en métaphase II précoce est donc reconnue comme en méiose I et permettrait de détacher spécifiquement les attachements incorrects (Vallot et al., 2018).

En métaphase II tardive, la tension est réduite naturellement et un traitement au STLC ne l'a réduit pas d'avantage. En parallèle, le recrutement de PP2A-B56 au niveau des kinétochores est accentué avec le temps. A ce moment de la métaphase II, l'accumulation de PP2A serait suffisante pour contrecarrer l'activité des kinases Aurora B/C. La balance Aurora B/C / PP2A serait donc inversée. Ainsi, malgré la présence d'une tension réduite, Aurora B/C ne peut pas phosphoryler Hec1 pour déstabiliser l'interaction KT-MT et activer le SAC. Une étude récente a montré que le SAC ne s'activait pas en présence de chromosomes mal alignés en métaphase II et qu'il n'empêchait pas l'entrée en anaphase II (Mihajlović et al., 2023). Cela confirme que les erreurs d'attachements ne seraient pas corrigées en métaphase II comme nous le montrons. Dans cette étude, ils concluent que le SAC en métaphase II n'est

pas assez efficace. D'après nos résultats, le SAC est bien fonctionnel en métaphase II, mais il n'est pas activé par les chromosomes mal alignés parce que le CPC n'est pas capable de déstabiliser des attachements avec une tension réduite.

Nos résultats révèlent une différence entre la métaphase I et la métaphase II tardive. Dans les deux cas, PP2A permet la stabilisation des attachements mais en métaphase I, réduire la tension permet d'inverser la balance en faveur d'Aurora B/C alors qu'en métaphase II tardive malgré une tension réduite, Aurora B/C n'est pas capable de contrecarrer PP2A (Vallot et al., 2018). Cette différence peut être due au fait que le niveau de PP2A est largement supérieur en métaphase II par rapport à la métaphase I (Yoshida et al., 2015). En méiose I, PP2A est retrouvée seulement dans une zone restreinte entre les kinétochores frères alors qu'en méiose II, PP2A est retrouvée à la fois entre les kinétochores frères et autour des centromères (Chambon et al., 2013; Gryaznova et al., 2021). L'orientation différente des chromatides sœurs entre la méiose I et la méiose II pourrait être la cause de cette différence de localisation de PP2A (Jang et al., 2021). Le recrutement de PP2A-B56 dépend de BubR1 et Mps1 (Yoshida et al., 2015). Il a été montré dans l'équipe de Katja Wassmann que Mps1 est maintenue au kinétochore tout au long de la métaphase II mais également après la ségrégation des chromatides sœurs en anaphase II précoce. Ainsi PP2A peut s'accumuler tout au long de la métaphase II (Gryaznova et al., 2021).

Cependant, nous n'avons pas été en mesure d'évaluer la localisation d'Aurora B/C au centromère en métaphase II précoce et tardive. Nous supposons que le niveau d'Aurora B/C reste constant pendant que PP2A s'accumule et inverse la balance en métaphase II tardive. Mais nous ne pouvons pas exclure que ce ne soit pas le cas. De plus, analyser plus précisément la localisation d'Aurora B/C et la distance avec ses substrats au cours de la métaphase II permettrait de mieux comprendre comment le

mécanisme de correction s'affaiblit avec le temps. Une approche pour évaluer la distance entre Aurora B/C et ses substrats serait de marquer INCENP située au kinétochore interne et Hec1 située au kinétochore externe. Cette approche a déjà été utilisée dans l'étude de Yoshida et al., en méiose I (Yoshida et al., 2015). Ainsi, il serait intéressant de comparer cette distance entre la métaphase II précoce et tardive, pour voir si une diminution naturelle de la tension impacte la localisation d'Aurora B/C et la proximité avec ses substrats. Mais nous montrons ici, que même si la réduction de tension observée en métaphase II rapproche Aurora B/C de ses substrats, ce n'est pas suffisant pour contrecarrer le niveau de PP2A.

Dans la suite de notre étude, nous avons dépolymériser le fuseau par le froid sur des ovocytes en métaphase II tardive. Nous avons observé que ceci réinitialise le niveau de PP2A au kinétochore et que celle-ci se réaccumule si on laisse le fuseau se repolymériser à 37°C. Cela suggère que le temps pendant lequel l'ovocyte est arrêté en métaphase II contribue à l'accumulation progressive de PP2A comme observé en méiose I (Yoshida et al., 2015). De plus, juste après la reformation du fuseau, l'ovocyte est de nouveau capable de répondre à une réduction de la tension en retardant l'anaphase II. Donc, dépolymériser le fuseau, et réinitialiser le niveau de PP2A permet de rallonger la fenêtre pendant laquelle le mécanisme de correction est efficace.

Est-ce que les attachements incorrects peuvent être corrigés en métaphase II tardive malgré une réduction de la tension ?

Puisque la tension diminue physiologiquement en métaphase II tardive, et que le mécanisme de correction est affaibli par l'augmentation de PP2A, nous supposons

que les attachements incorrects ne pouvaient plus être corrigés en métaphase II tardive. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons généré artificiellement des attachements monopolaires. De façon inattendue, les fuseaux monopolaires dans les ovocytes ont été capables de se reformer aussi efficacement en métaphase II tardive. Donc des attachements monopolaires ont pu être corrigés malgré le niveau élevé de PP2A.

Une hypothèse est que la configuration des kinétochores attachés de façon monopolaire permet une meilleure accessibilité d'Aurora B/C à ces substrats et favorise la déstabilisation des interactions KT-MT. En effet dans nos expériences, nous avons analysé l'effet d'une réduction de tension sur des chromatides bi-orientées et non mono-orientées. Il serait pertinent de comparer la localisation d'Aurora B/C sur des chromatides mono-orientées et bi-orientées avec une tension réduite.

Une autre hypothèse est qu'Aurora A contribue davantage à la correction des attachements monopolaires. En effet, Aurora A est située au niveau des pôles du fuseau et peut phosphoryler les substrats kinétochoriens d'Aurora B/C quand les chromosomes sont proches des pôles (Ye et al., 2015; Chmátal et al., 2015; Keith F. DeLuca et al., 2018). Or, l'organisation monopolaire du fuseau pourrait rapprocher les kinétochores d'Aurora A. On peut supposer qu'avec l'aide d'Aurora A, Aurora B/C parvient à contrecarrer PP2A. Il serait intéressant d'étudier la localisation d'Aurora A en métaphase II tardive dans un fuseau monopolaire. Par ailleurs, l'inhibition d'Aurora A avec un inhibiteur spécifique permettrait de vérifier si en son absence les attachements monopolaires sont toujours corrigés.

Est-ce que les erreurs d'attachement en métaphase II pourraient contribuer aux aneuploïdies dans les ovocytes âgés ?

D'après nos résultats, si les ovocytes restent arrêtés trop longtemps en métaphase II, et que des erreurs d'attachement n'ont pas été corrigées avant, ces erreurs devraient être stabilisées et pourraient induire des aneuploïdies. En effet, si l'anaphase II a lieu alors que des chromosomes sont mal alignés, ils risquent de ségréger de façon incorrecte. Cependant l'étude de Kouznetsova et al. montre que la majorité des attachements incorrects en métaphase II ne conduit pas à des erreurs de ségrégation en anaphase II (Kouznetsova et al., 2019). De ce fait, ils proposent qu'il existe un mécanisme de correction des erreurs post-métaphasique et que les erreurs d'attachement observées en métaphase II sont rétablies et ne contribuent pas grandement aux aneuploïdies. Par conséquent, la correction des erreurs en méiose II se ferait en deux temps : en métaphase II précoce et en début d'anaphase II. On parlerait ainsi de « double-checking » de la correction des chromosomes (Kouznetsova et al., 2019; Maiato et al., 2023).

Une autre étude de Kouznetsova et al. a étudié l'impact du vieillissement sur ce mécanisme de correction post-métaphase dans des ovocytes de souris (Kouznetsova et al., 2022). Ils ont constaté que ce processus est environ dix fois moins efficace chez des souris âgées que chez des souris jeunes. Environ la moitié des ovocytes chez les souris âgées présentaient des erreurs de ségrégation. Ainsi, l'affaiblissement du mécanisme de correction que nous montrons en métaphase II tardive pourrait avoir plus d'impact dans les ovocytes de souris âgées, quand il y a plus d'erreurs à gérer et quand la correction post-métaphasique est également moins efficace. Récemment, cela a été confirmé par une étude de Mihajlović et al. qui a montré que dans les

ovocytes de souris âgées, il y a davantage de chromosomes mal alignés et leur ségrégation en anaphase II est responsable d'erreurs (Mihajlović et al., 2023).

Pour conclure, nos résultats ont permis de mettre en évidence pour la première fois une réduction de la tension dans les ovocytes arrêtés en métaphase II associé à un affaiblissement du mécanisme de correction au cours du temps. L'inefficacité du mécanisme de correction permettrait de stabiliser les attachements corrects malgré la faible tension mais aussi les attachements incorrects qui auraient échappé au mécanisme de correction plus tôt. Cela explique pourquoi nous et d'autres études observons quelques chromosomes mal alignés qui persistent en métaphase II (Kouznetsova et al., 2014).

Bibliographie

- Abe, S., Nagasaka, K., Hirayama, Y., Kozuka-Hata, H., Oyama, M., Aoyagi, Y., Obuse, C. and Hirota, T., The Initial Phase of Chromosome Condensation Requires Cdk1-Mediated Phosphorylation of the CAP-D3 Subunit of Condensin II, *Genes & Development*, vol. **25**, no. 8, p. 863, accessed September 30, 2023, from /pmc/articles/PMC3078710/, April 4, 2011. DOI: 10.1101/GAD.2016411
- Adams, R. R., Carmena, M. and Earnshaw, W. C., Chromosomal Passengers and the (Aurora) ABCs of Mitosis, *Trends in Cell Biology*, vol. **11**, no. 2, pp. 49–54, accessed October 27, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11166196/>, February 1, 2001. DOI: 10.1016/S0962-8924(00)01880-8
- Adhikari, D. and Liu, K., The Regulation of Maturation Promoting Factor during Prophase I Arrest and Meiotic Entry in Mammalian Oocytes, *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol. **382**, no. 1, pp. 480–87, accessed September 12, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23916417/>, January 25, 2014. DOI: 10.1016/J.MCE.2013.07.027
- Ainsztein, A. M., Kandels-Lewis, S. E., Mackay, A. M. and Earnshaw, W. C., INCENP Centromere and Spindle Targeting: Identification of Essential Conserved Motifs and Involvement of Heterochromatin Protein HP1, *The Journal of Cell Biology*, vol. **143**, no. 7, pp. 1763–74, accessed October 18, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9864353/>, December 28, 1998. DOI: 10.1083/JCB.143.7.1763
- Almonacid, M., Terret, M. E. and Verlhac, M. H., Control of Nucleus Positioning in Mouse Oocytes, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, vol. **82**, pp. 34–40, accessed October 2, 2023, October 1, 2018. DOI: 10.1016/J.SEMCDB.2017.08.010
- Azimzadeh, J. and Bornens, M., Structure and Duplication of the Centrosome, *Journal of Cell Science*, vol. **120**, no. Pt 13, pp. 2139–42, accessed September 18, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17591686/>, July 1, 2007. DOI: 10.1242/JCS.005231
- Azoury, J., Verlhac, M.-H. and Dumont, J., Actin Filaments: Key Players in the Control of Asymmetric Divisions in Mouse Oocytes, *Biology of the Cell*, vol. **101**, no. 2, pp. 69–76, accessed October 2, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19076067/>, February 2009. DOI: 10.1042/BC20080003
- Balboula, A. Z. and Schindler, K., Selective Disruption of Aurora C Kinase Reveals Distinct Functions from Aurora B Kinase during Meiosis in Mouse Oocytes, *PLoS Genetics*, vol. **10**, no. 2, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24586209/>, February 2014. DOI: 10.1371/JOURNAL.PGEN.1004194
- Barber, T. D., McManus, K., Yuen, K. W. Y., Reis, M., Parmigiani, G., Shen, D., Barrett, I., et al., Chromatid Cohesion Defects May Underlie Chromosome Instability in Human Colorectal Cancers, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. **105**, no. 9, pp. 3443–48, accessed October 15, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18299561/>, March 4, 2008. DOI: 10.1073/PNAS.0712384105
- Beardmore, V. A., Ahonen, L. J., Gorbsky, G. J. and Kallio, M. J., Survivin Dynamics Increases at Centromeres during G2/M Phase Transition and Is Regulated by Microtubule-Attachment and Aurora B Kinase Activity, *Journal of Cell Science*, vol. **117**, no. Pt 18, pp.

- 4033–42, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15280424/>, August 15, 2004. DOI: 10.1242/JCS.01242
- Bennabi, I., Terret, M. E. and Verlhac, M. H., Meiotic Spindle Assembly and Chromosome Segregation in Oocytes, *The Journal of Cell Biology*, vol. **215**, no. 5, p. 611, accessed October 26, 2023, from </pmc/articles/PMC5147004/>, December 12, 2016. DOI: 10.1083/JCB.201607062
- Breuer, M., Kolano, A., Kwon, M., Li, C. C., Tsai, T. F., Pellman, D., Brunet, S. and Verlhac, M. H., HURP Permits MTOC Sorting for Robust Meiotic Spindle Bipolarity, Similar to Extra Centrosome Clustering in Cancer Cells, *The Journal of Cell Biology*, vol. **191**, no. 7, p. 1251, accessed October 26, 2023, from </pmc/articles/PMC3010075/>, December 12, 2010. DOI: 10.1083/JCB.201005065
- Brier, S., Lemaire, D., DeBonis, S., Forest, E. and Kozielski, F., Identification of the Protein Binding Region of S-Trityl-L-Cysteine, a New Potent Inhibitor of the Mitotic Kinesin Eg5, *Biochemistry*, vol. **43**, no. 41, pp. 13072–82, accessed October 30, 2023, from <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/bi049264e>, October 19, 2004. DOI: 10.1021/BI049264E/ASSET/IMAGES/LARGE/BI049264EF00008.JPEG
- Buffin, E., Lefebvre, C., Huang, J., Gagou, M. E. and Karess, R. E., Recruitment of Mad2 to the Kinetochores Requires the Rod/Zw10 Complex, *Current Biology : CB*, vol. **15**, no. 9, pp. 856–61, accessed October 27, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15886105/>, May 2005. DOI: 10.1016/J.CUB.2005.03.052
- Cairo, G. and Lacefield, S., Establishing Correct Kinetochores-Microtubule Attachments in Mitosis and Meiosis, *Essays in Biochemistry*, vol. **64**, no. 2, p. 277, accessed October 5, 2023, from </pmc/articles/PMC8670262/>, September 9, 2020. DOI: 10.1042/EBC20190072
- Callan, H. G. and Jacobs, P. A., The Meiotic Process in Mantis Religiosa L. Males - With Plates 9-11 and Five Text-Figures, *Journal of Genetics*, vol. **55**, no. 1, pp. 200–217, accessed October 30, 2023, from <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02981625>, February 1957. DOI: 10.1007/BF02981625/METRICS
- Carroll, C. W., Silva, M. C. C., Godek, K. M., Jansen, L. E. T. and Straight, A. F., Centromere Assembly Requires the Direct Recognition of CENP-A Nucleosomes by CENP-N, *Nature Cell Biology*, vol. **11**, no. 7, p. 896, accessed October 13, 2023, from </pmc/articles/PMC2704923/>, 2009. DOI: 10.1038/NCB1899
- Castro, A. and Lorca, T., Greatwall Kinase at a Glance, *Journal of Cell Science*, vol. **131**, no. 20, accessed August 22, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30355803/>, October 1, 2018. DOI: 10.1242/JCS.222364
- Chaigne, A., Campillo, C., Gov, N. S., Voituriez, R., Azoury, J., Umaña-Díaz, C., Almonacid, M., et al., A Soft Cortex Is Essential for Asymmetric Spindle Positioning in Mouse Oocytes, *Nature Cell Biology*, vol. **15**, no. 8, pp. 958–66, accessed October 2, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23851486/>, August 2013. DOI: 10.1038/NCB2799
- Chaigne, A., Terret, M. E. and Verlhac, M. H., Asymmetries and Symmetries in the Mouse Oocyte and Zygote, *Results and Problems in Cell Differentiation*, vol. **61**, pp. 285–99, accessed October 25, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28409310/>, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-53150-2_13
- Chambon, J. P., Touati, S. A., Berneau, S., Cladière, D., Hebras, C., Groeme, R., McDougall, A. and Wassmann, K., The PP2A Inhibitor I2PP2A Is Essential for Sister Chromatid Segregation in Oocyte Meiosis II, *Current Biology*, vol. **23**, no. 6, pp. 485–90, accessed October 20, 2023, March 18, 2013. DOI: 10.1016/J.CUB.2013.02.004

- Chavda, A. P., Ang, K. and Ivanov, D., The Torments of the Cohesin Ring, *Nucleus*, vol. **8**, no. 3, p. 261, accessed October 15, 2023, from </pmc/articles/PMC5499920/>, May 4, 2017. DOI: 10.1080/19491034.2017.1295200
- Cheeseman, I. M., Chappie, J. S., Wilson-Kubalek, E. M. and Desai, A., The Conserved KMN Network Constitutes the Core Microtubule-Binding Site of the Kinetochores, *Cell*, vol. **127**, no. 5, pp. 983–97, accessed October 5, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17129783/>, December 1, 2006. DOI: 10.1016/J.CELL.2006.09.039
- Cheeseman, I. M. and Desai, A., Molecular Architecture of the Kinetochores-Microtubule Interface, *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, vol. **9**, no. 1, pp. 33–46, accessed October 5, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18097444/>, January 2008. DOI: 10.1038/NRM2310
- Cheng, H., Zhang, N. and Pati, D., Cohesin Subunit RAD21: From Biology to Disease, *Gene*, vol. **758**, p. 144966, accessed October 25, 2023, from </pmc/articles/PMC7949736/>, October 10, 2020. DOI: 10.1016/J.GENE.2020.144966
- Chiang, T., Duncan, F. E., Schindler, K., Schultz, R. M. and Lampson, M. A., Evidence That Weakened Centromere Cohesion Is a Leading Cause of Age-Related Aneuploidy in Oocytes, *Current Biology : CB*, vol. **20**, no. 17, p. 1522, accessed October 19, 2023, from </pmc/articles/PMC2939204/>, September 9, 2010. DOI: 10.1016/J.CUB.2010.06.069
- Chmátal, L., Yang, K., Schultz, R. M. and Lampson, M. A., Spatial Regulation of Kinetochores Microtubule Attachments by Destabilization at Spindle Poles in Meiosis I, *Current Biology : CB*, vol. **25**, no. 14, pp. 1835–41, accessed November 8, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26166779/>, July 20, 2015. DOI: 10.1016/J.CUB.2015.05.013
- Cho, W. K., Stern, S. and Biggers, J. D., Inhibitory Effect of Dibutyl CAMP on Mouse Oocyte Maturation in Vitro, *The Journal of Experimental Zoology*, vol. **187**, no. 3, pp. 383–86, accessed September 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4362350/>, 1974. DOI: 10.1002/JEZ.1401870307
- Colombié, N., Głuszek, A. A., Meireles, A. M. and Ohkura, H., Meiosis-Specific Stable Binding of Augmin to Acentrosomal Spindle Poles Promotes Biased Microtubule Assembly in Oocytes, *PLoS Genetics*, vol. **9**, no. 6, accessed October 26, 2023, from </pmc/articles/PMC3681601/>, June 2013. DOI: 10.1371/JOURNAL.PGEN.1003562
- Coulombe, P., Rodier, G. and Meloche, S., Un Nouvel Axe Du Mal Tumoral ?, *Médecine/Sciences*, vol. **25**, no. 8–9, pp. 673–75, accessed October 12, 2023, from https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/full_html/2009/09/medsci2009258-9p673/medsci2009258-9p673.html, August 1, 2009. DOI: 10.1051/MEDSCI/2009258-9673
- Craske, B. and Welburn, J. P. I., Leaving No-One behind: How CENP-E Facilitates Chromosome Alignment, *Essays in Biochemistry*, vol. **64**, no. 2, pp. 313–24, accessed October 27, 2023, from </essaysbiochem/article/64/2/313/222869/Leaving-no-one-behind-how-CENP-E-facilitates>, September 4, 2020. DOI: 10.1042/EBC20190073
- Culty, M., Gonocytes, the Forgotten Cells of the Germ Cell Lineage, *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, vol. **87**, no. 1, pp. 1–26, accessed July 11, 2023, from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bdrc.20142>, March 1, 2009. DOI: 10.1002/BDRC.20142
- Davydenko, O., Schultz, R. M. and Lampson, M. A., Increased CDK1 Activity Determines the Timing of Kinetochores-Microtubule Attachments in Meiosis I, *The Journal of Cell Biology*,

- vol. **202**, no. 2, p. 221, accessed October 22, 2023, from </pmc/articles/PMC3718970/>, July 7, 2013. DOI: 10.1083/JCB.201303019
- DeLuca, J. G., Gall, W. E., Ciferri, C., Cimini, D., Musacchio, A. and Salmon, E. D., Kinetochores Microtubule Dynamics and Attachment Stability Are Regulated by Hec1, *Cell*, vol. **127**, no. 5, pp. 969–82, accessed October 5, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17129782/>, December 1, 2006. DOI: 10.1016/J.CELL.2006.09.047
- DeLuca, K. F., Meppelink, A., Broad, A. J., Mick, J. E., Peersen, O. B., Pektas, S., Lens, S. M. A. and DeLuca, J. G., Aurora A Kinase Phosphorylates Hec1 to Regulate Metaphase Kinetochores-Microtubule Dynamics, *The Journal of Cell Biology*, vol. **217**, no. 1, pp. 163–77, accessed October 27, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29187526/>, January 1, 2018. DOI: 10.1083/JCB.201707160
- Domingo-Sananes, M. R., Kapuy, O., Hunt, T. and Novak, B., Switches and Latches: A Biochemical Tug-of-War between the Kinases and Phosphatases That Control Mitosis, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. **366**, no. 1584, p. 3584, accessed October 11, 2023, from </pmc/articles/PMC3203464/>, December 12, 2011. DOI: 10.1098/RSTB.2011.0087
- Doodhi, H., Kaschiukovic, T., Clayton, L. and Tanaka, T. U., Aurora B Switches Relative Strength of Kinetochores-Microtubule Attachment Modes for Error Correction, *The Journal of Cell Biology*, vol. **220**, no. 6, accessed October 26, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33851957/>, June 7, 2021. DOI: 10.1083/JCB.202011117
- Dreier, M. R., Bekier, M. E. and Taylor, W. R., Regulation of Sororin by Cdk1-Mediated Phosphorylation, *Journal of Cell Science*, vol. **124**, no. 17, pp. 2976–87, accessed October 23, 2023, from </pmc/articles/PMC3166038/>, September 1, 2011. DOI: 10.1242/JCS.085431/-/DC1
- Dumont, J. and Desai, A., Acentrosomal Spindle Assembly & Chromosome Segregation During Oocyte Meiosis, *Trends in Cell Biology*, vol. **22**, no. 5, p. 241, accessed September 18, 2023, from </pmc/articles/PMC3348331/>, May 2012. DOI: 10.1016/J.TCB.2012.02.007
- Dumont, J., Petri, S., Pellegrin, F., Terret, M. E., Bohnsack, M. T., Rassinier, P., Georget, V., Kalab, P., Gruss, O. J. and Verlhac, M. H., A Centriole- and RanGTP-Independent Spindle Assembly Pathway in Meiosis I of Vertebrate Oocytes, *The Journal of Cell Biology*, vol. **176**, no. 3, p. 295, accessed October 26, 2023, from </pmc/articles/PMC2063956/>, January 1, 2007. DOI: 10.1083/JCB.200605199
- Enserink, J. M. and Kolodner, R. D., An Overview of Cdk1-Controlled Targets and Processes, *Cell Division*, vol. **5**, p. 11, accessed October 29, 2023, from </pmc/articles/PMC2876151/>, May 13, 2010. DOI: 10.1186/1747-1028-5-11
- Eppig, J. J., Maintenance of Meiotic Arrest and the Induction of Oocyte Maturation in Mouse Oocyte-Granulosa Cell Complexes Developed in Vitro from Preantral Follicles, *Biology of Reproduction*, vol. **45**, no. 6, pp. 824–30, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1666849/>, 1991. DOI: 10.1095/BIOLREPROD45.6.824
- Etemad, B., Kuijt, T. E. F. and Kops, G. J. P. L., Kinetochores-Microtubule Attachment Is Sufficient to Satisfy the Human Spindle Assembly Checkpoint, *Nature Communications*, vol. **6**, accessed November 2, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26621779/>, December 1, 2015. DOI: 10.1038/NCOMMS9987

- Fan, H. Y., Liu, Z., Shimada, M., Sterneck, E., Johnson, P. F., Hedrick, S. M. and Richards, J. S., MAPK3/1 (ERK1/2) in Ovarian Granulosa Cells Are Essential for Female Fertility, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **324**, no. 5929, pp. 938–41, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19443782/>, May 15, 2009. DOI: 10.1126/SCIENCE.1171396
- Fayomi, A. P. and Orwig, K. E., Spermatogonial Stem Cells and Spermatogenesis in Mice, Monkeys and Men, *Stem Cell Research*, vol. **29**, p. 207, accessed July 9, 2023, from </pmc/articles/PMC6010318/>, May 1, 2018. DOI: 10.1016/J.SCR.2018.04.009
- Fischer, E. S., Kinetochore-Catalyzed MCC Formation: A Structural Perspective, *IUBMB Life*, vol. **75**, no. 4, p. 289, accessed October 9, 2023, from </pmc/articles/PMC7614552/>, April 4, 2023. DOI: 10.1002/IUB.2697
- Foley, E. A. and Kapoor, T. M., Microtubule Attachment and Spindle Assembly Checkpoint Signaling at the Kinetochore, *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, vol. **14**, no. 1, p. 25, accessed October 8, 2023, from </pmc/articles/PMC3762224/>, January 2013. DOI: 10.1038/NRM3494
- Foley, E. A., Maldonado, M. and Kapoor, T. M., Formation of Stable Attachments between Kinetochores and Microtubules Depends on the B56-PP2A Phosphatase, *Nature Cell Biology*, vol. **13**, no. 10, pp. 1265–71, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21874008/>, October 2011. DOI: 10.1038/NCB2327
- Fung, T. K. and Poon, R. Y. C., A Roller Coaster Ride with the Mitotic Cyclins, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, vol. **16**, no. 3, pp. 335–42, accessed August 23, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15840442/>, 2005. DOI: 10.1016/J.SEMCDB.2005.02.014
- Giménez-Abián, J. F., Sumara, I., Hirota, T., Hauf, S., Gerlich, D., La Torre, C. De, Ellenberg, J. and Peters, J. M., Regulation of Sister Chromatid Cohesion between Chromosome Arms, *Current Biology*, vol. **14**, no. 13, pp. 1187–93, accessed October 31, 2023, July 13, 2004. DOI: 10.1016/J.CUB.2004.06.052
- Gómez, R., Valdeolillos, A., Parra, M. T., Viera, A., Carreiro, C., Roncal, F., Rufas, J. S., Barbero, J. L. and Suja, J. A., Mammalian SGO2 Appears at the Inner Centromere Domain and Redistributes Depending on Tension across Centromeres during Meiosis II and Mitosis, *EMBO Reports*, vol. **8**, no. 2, p. 173, accessed October 20, 2023, from </pmc/articles/PMC1796771/>, February 2007. DOI: 10.1038/SJ.EMBOR.7400877
- Gorbsky, G. J., The Spindle Checkpoint and Chromosome Segregation in Meiosis, *The FEBS Journal*, vol. **282**, no. 13, p. 2458, accessed November 2, 2023, from </pmc/articles/PMC4454629/>, July 1, 2015. DOI: 10.1111/FEBS.13166
- Gouveia, B., Setru, S. U., King, M. R., Hamlin, A., Stone, H. A., Shaevitz, J. W. and Petry, S., Acentrosomal Spindles Assemble from Branching Microtubule Nucleation near Chromosomes in *Xenopus laevis* Egg Extract, *Nature Communications*, vol. **14**, no. 1, accessed October 26, 2023, from </pmc/articles/PMC10284841/>, December 1, 2023. DOI: 10.1038/S41467-023-39041-Z
- Gruss, O. J., Carazo-Salas, R. E., Schatz, C. A., Guarguaglini, G., Kast, J., Wilm, M., Bot, N. Le, Vernos, I., Karsenti, E. and Mattaj, I. W., Ran Induces Spindle Assembly by Reversing the Inhibitory Effect of Importin Alpha on TPX2 Activity, *Cell*, vol. **104**, no. 1, pp. 83–93, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11163242/>, January 12, 2001. DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00193-3
- Gruss, O. J. and Vernos, I., The Mechanism of Spindle Assembly: Functions of Ran and Its Target TPX2, *The Journal of Cell Biology*, vol. **166**, no. 7, pp. 949–55, accessed October

- 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15452138/>, September 27, 2004. DOI: 10.1083/JCB.200312112
- Gryaznova, Y., Keating, L., Touati, S. A., Cladière, D., Yakoubi, W. El, Buffin, E. and Wassmann, K., Kinetochore Individualization in Meiosis I Is Required for Centromeric Cohesin Removal in Meiosis II, *The EMBO Journal*, vol. **40**, no. 7, accessed October 25, 2023, from </pmc/articles/PMC8013791/>, April 4, 2021. DOI: 10.15252/EMBJ.2020106797
- Habedanck, R., Stierhof, Y. D., Wilkinson, C. J. and Nigg, E. A., The Polo Kinase Plk4 Functions in Centriole Duplication, *Nature Cell Biology* 2005 7:11, vol. **7**, no. 11, pp. 1140–46, accessed September 28, 2023, from <https://www.nature.com/articles/ncb1320>, October 23, 2005. DOI: 10.1038/ncb1320
- Hached, K., Xie, S. Z., Buffin, E., Cladière, D., Rachez, C., Sacras, M., Sorger, P. K. and Wassmann, K., Mps1 at Kinetochores Is Essential for Female Mouse Meiosis I, *Development*, vol. **138**, no. 11, pp. 2261–71, accessed October 9, 2023, from <https://dx.doi.org/10.1242/dev.061317>, June 1, 2011. DOI: 10.1242/DEV.061317
- Haering, C. H., Löwe, J., Hochwagen, A. and Nasmyth, K., Molecular Architecture of SMC Proteins and the Yeast Cohesin Complex, *Molecular Cell*, vol. **9**, no. 4, pp. 773–88, accessed October 15, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11983169/>, 2002. DOI: 10.1016/S1097-2765(02)00515-4
- Hambleton, R., Krall, J., Tikishvili, E., Honeggar, M., Ahmad, F., Manganiello, V. C. and Movsesian, M. A., Isoforms of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase PDE3 and Their Contribution to cAMP Hydrolytic Activity in Subcellular Fractions of Human Myocardium, *The Journal of Biological Chemistry*, vol. **280**, no. 47, pp. 39168–74, accessed October 12, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16172121/>, November 25, 2005. DOI: 10.1074/JBC.M506760200
- Hansen, D. V., Loktev, A. V., Ban, K. H. and Jackson, P. K., Plk1 Regulates Activation of the Anaphase Promoting Complex by Phosphorylating and Triggering SCFbetaTrCP-Dependent Destruction of the APC Inhibitor Emi1, *Molecular Biology of the Cell*, vol. **15**, no. 12, pp. 5623–34, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15469984/>, December 2004. DOI: 10.1091/MBC.E04-07-0598
- Hara, M. and Fukagawa, T., Critical Foundation of the Kinetochore: The Constitutive Centromere-Associated Network (CCAN), *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, vol. **56**, pp. 29–57, accessed October 26, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28840232/>, January 1, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-58592-5_2
- Hassold, T. and Hunt, P., To Err (Meiotically) Is Human: The Genesis of Human Aneuploidy, *Nature Reviews. Genetics*, vol. **2**, no. 4, pp. 280–91, accessed October 2, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11283700/>, April 2001. DOI: 10.1038/35066065
- Heald, R. and Khodjakov, A., Thirty Years of Search and Capture: The Complex Simplicity of Mitotic Spindle Assembly, *The Journal of Cell Biology*, vol. **211**, no. 6, p. 1103, accessed September 20, 2023, from </pmc/articles/PMC4687881/>, December 12, 2015. DOI: 10.1083/JCB.201510015
- Helgeson, L. A., Zelter, A., Riffle, M., MacCoss, M. J., Asbury, C. L. and Davis, T. N., Human Ska Complex and Ndc80 Complex Interact to Form a Load-Bearing Assembly That Strengthens Kinetochore–Microtubule Attachments, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. **115**, no. 11, pp. 2740–45, accessed October 13, 2023, from

- <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1718553115>, March 13, 2018. DOI: 10.1073/PNAS.1718553115/SUPPL_FILE/PNAS.201718553SI.PDF
- Higgins, J. M. G., Haspin: A Newly Discovered Regulator of Mitotic Chromosome Behavior, *Chromosoma*, vol. **119**, no. 2, pp. 137–47, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19997740/>, April 2010. DOI: 10.1007/S00412-009-0250-4
- Hinchcliffe, E. H., Li, C., Thompson, E. A., Maller, J. L. and Sluder, G., Requirement of Cdk2-Cyclin E Activity for Repeated Centrosome Reproduction in Xenopus Egg Extracts, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **283**, no. 5403, pp. 851–54, accessed September 30, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9933170/>, February 5, 1999. DOI: 10.1126/SCIENCE.283.5403.851
- Hirota, T., Gerlich, D., Koch, B., Ellenberg, J. and Peters, J. M., Distinct Functions of Condensin I and II in Mitotic Chromosome Assembly, *Journal of Cell Science*, vol. **117**, no. Pt 26, pp. 6435–45, accessed October 19, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15572404/>, December 15, 2004. DOI: 10.1242/JCS.01604
- Hirota, T., Lipp, J. J., Toh, B. H. and Peters, J. M., Histone H3 Serine 10 Phosphorylation by Aurora B Causes HP1 Dissociation from Heterochromatin, *Nature*, vol. **438**, no. 7071, pp. 1176–80, accessed October 18, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16222244/>, December 22, 2005. DOI: 10.1038/NATURE04254
- Holubcová, Z., Blayney, M., Elder, K. and Schuh, M., Error-Prone Chromosome-Mediated Spindle Assembly Favors Chromosome Segregation Defects in Human Oocytes, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **348**, no. 6239, p. 1143, accessed October 26, 2023, from </pmc/articles/PMC4477045/>, June 6, 2015. DOI: 10.1126/SCIENCE.AAA9529
- Howell, B. J., McEwen, B. F., Canman, J. C., Hoffman, D. B., Farrar, E. M., Rieder, C. L. and Salmon, E. D., Cytoplasmic Dynein/Dynactin Drives Kinetochores Protein Transport to the Spindle Poles and Has a Role in Mitotic Spindle Checkpoint Inactivation, *The Journal of Cell Biology*, vol. **155**, no. 7, p. 1159, accessed October 13, 2023, from </pmc/articles/PMC2199338/>, December 12, 2001. DOI: 10.1083/JCB.200105093
- Huang, H., Hittle, J., Zappacosta, F., Annan, R. S., Hershko, A. and Yen, T. J., Phosphorylation Sites in BubR1 That Regulate Kinetochores Attachment, Tension, and Mitotic Exit, *The Journal of Cell Biology*, vol. **183**, no. 4, pp. 667–80, accessed October 22, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19015317/>, November 17, 2008. DOI: 10.1083/JCB.200805163
- Hunt, P. A. and Hassold, T. J., Human Female Meiosis: What Makes a Good Egg Go Bad?, *Trends in Genetics : TIG*, vol. **24**, no. 2, pp. 86–93, accessed July 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18192063/>, February 2008. DOI: 10.1016/J.TIG.2007.11.010
- Ishiguro, K. I., Kim, J., Fujiyama-Nakamura, S., Kato, S. and Watanabe, Y., A New Meiosis-Specific Cohesin Complex Implicated in the Cohesin Code for Homologous Pairing, *EMBO Reports*, vol. **12**, no. 3, pp. 267–75, accessed October 19, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21274006/>, March 2011. DOI: 10.1038/EMBOR.2011.2
- Jang, J. K., Gladstein, A. C., Das, A., Shapiro, J. G., Sisco, Z. L. and McKim, K. S., Multiple Pools of PP2A Regulate Spindle Assembly, Kinetochores Attachments and Cohesion in Drosophila Oocytes, *Journal of Cell Science*, vol. **134**, no. 14, accessed November 2,

- 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34297127/>, July 1, 2021. DOI: 10.1242/JCS.254037
- Johmura, Y., Soung, N. K., Park, J. E., Yu, L. R., Zhou, M., Bang, J. K., Kim, B. Y., Veenstra, T. D., Erikson, R. L. and Lee, K. S., Regulation of Microtubule-Based Microtubule Nucleation by Mammalian Polo-like Kinase 1, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. **108**, no. 28, pp. 11446–51, accessed October 26, 2023, July 12, 2011. DOI: 10.1073/PNAS.1106223108
- Jones, K. T., Meiosis in Oocytes: Predisposition to Aneuploidy and Its Increased Incidence with Age, *Human Reproduction Update*, vol. **14**, no. 2, pp. 143–58, accessed October 12, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18084010/>, 2008. DOI: 10.1093/HUMUPD/DMM043
- Kalinina, I., Nandi, A., Delivani, P., Chacón, M. R., Klemm, A. H., Ramunno-Johnson, D., Krull, A., Lindner, B., Pavin, N. and Tolić-Nørrelykke, I. M., Pivoting of Microtubules around the Spindle Pole Accelerates Kinetochore Capture, *Nature Cell Biology*, vol. **15**, no. 1, pp. 82–87, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23222841/>, January 2013. DOI: 10.1038/NCB2640
- Katis, V. L., Lipp, J. J., Imre, R., Bogdanova, A., Okaz, E., Habermann, B., Mechtler, K., Nasmyth, K. and Zachariae, W., Rec8 Phosphorylation by Casein Kinase 1 and Cdc7-Dbf4 Kinase Regulates Cohesin Cleavage by Separase during Meiosis, *Developmental Cell*, vol. **18**, no. 3, p. 397, accessed October 25, 2023, from </pmc/articles/PMC2994640/>, March 3, 2010. DOI: 10.1016/J.DEVCEL.2010.01.014
- Kawashima, S. A., Yamagishi, Y., Honda, T., Lshiguro, K. I. and Watanabe, Y., Phosphorylation of H2A by Bub1 Prevents Chromosomal Instability through Localizing Shugoshin, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **327**, no. 5962, pp. 172–77, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19965387/>, 2010. DOI: 10.1126/SCIENCE.1180189
- Kelly, A. E. and Funabiki, H., Correcting Aberrant Kinetochore Microtubule Attachments: An Aurora B-Centric View, *Current Opinion in Cell Biology*, vol. **21**, no. 1, p. 51, accessed October 13, 2023, from </pmc/articles/PMC2801027/>, February 2009. DOI: 10.1016/J.CEB.2009.01.004
- Kirschner, M. and Mitchison, T., Beyond Self-Assembly: From Microtubules to Morphogenesis, *Cell*, vol. **45**, no. 3, pp. 329–42, accessed September 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3516413/>, May 9, 1986. DOI: 10.1016/0092-8674(86)90318-1
- Kitagawa, M. and Lee, S. H., The Chromosomal Passenger Complex (CPC) as a Key Orchestrator of Orderly Mitotic Exit and Cytokinesis, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. **3**, no. MAR, p. 14, accessed October 18, 2023, from </pmc/articles/PMC4350427/>, March 5, 2015. DOI: 10.3389/FCCELL.2015.00014
- Kitajima, T. S., Mechanisms of Kinetochore-Microtubule Attachment Errors in Mammalian Oocytes, *Development, Growth & Differentiation*, vol. **60**, no. 1, pp. 33–43, accessed October 27, 2023, from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/dgd.12410>, January 1, 2018. DOI: 10.1111/DGD.12410
- Kitajima, T. S., Ohsugi, M. and Ellenberg, J., Complete Kinetochore Tracking Reveals Error-Prone Homologous Chromosome Biorientation in Mammalian Oocytes, *Cell*, vol. **146**, no. 4, pp. 568–81, accessed October 6, 2023, August 19, 2011. DOI: 10.1016/J.CELL.2011.07.031
- Kitajima, T. S., Sakuno, T., Ishiguro, K. I., Iemura, S. I., Natsume, T., Kawashima, S. A. and Watanabe, Y., Shugoshin Collaborates with Protein Phosphatase 2A to Protect Cohesin,

- Nature*, vol. **441**, no. 7089, pp. 46–52, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16541025/>, May 4, 2006. DOI: 10.1038/NATURE04663
- Klein, U. R., Nigg, E. A. and Gruneberg, U., Centromere Targeting of the Chromosomal Passenger Complex Requires a Ternary Subcomplex of Borealin, Survivin, and the N-Terminal Domain of INCENP, *Molecular Biology of the Cell*, vol. **17**, no. 6, pp. 2547–58, accessed October 5, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16571674/>, June 2006. DOI: 10.1091/MBC.E05-12-1133
- Kolano, A., Brunet, S., Silk, A. D., Cleveland, D. W. and Verlhac, M. H., Error-Prone Mammalian Female Meiosis from Silencing the Spindle Assembly Checkpoint without Normal Interkinetochore Tension, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. **109**, no. 27, accessed October 26, 2023a, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22552228/>, July 3, 2012. DOI: 10.1073/PNAS.1204686109
- Kolano, A., Brunet, S., Silk, A. D., Cleveland, D. W. and Verlhac, M. H., Error-Prone Mammalian Female Meiosis from Silencing the Spindle Assembly Checkpoint without Normal Interkinetochore Tension, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. **109**, no. 27, p. E1858, accessed November 2, 2023b, from </pmc/articles/PMC3390881/>, July 3, 2012. DOI: 10.1073/PNAS.1204686109/-/DCSUPPLEMENTAL
- Koninck, M. De and Losada, A., Cohesin Mutations in Cancer, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, vol. **6**, no. 12, accessed October 15, 2023, from </pmc/articles/PMC5131750/>, 2016. DOI: 10.1101/CSHPERSPECT.A026476
- Kouznetsova, A., Hernández-Hernández, A. and Höög, C., Merotelic Attachments Allow Alignment and Stabilization of Chromatids in Meiosis II Oocytes, *Nature Communications*, vol. **5**, accessed October 9, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25007239/>, July 9, 2014. DOI: 10.1038/NCOMMS5409
- Kouznetsova, A., Kitajima, T. S., Brismar, H. and Höög, C., Post-Metaphase Correction of Aberrant Kinetochore-Microtubule Attachments in Mammalian Eggs, *EMBO Reports*, vol. **20**, no. 8, accessed October 10, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31290587/>, August 2019. DOI: 10.15252/EMBR.201947905
- Kouznetsova, A., Liu, J. G., Valentiniene, S., Brismar, H. and Höög, C., Age-Dependent Aneuploidy in Mammalian Oocytes Instigated at the Second Meiotic Division, *Aging Cell*, vol. **21**, no. 7, accessed November 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35665589/>, July 1, 2022. DOI: 10.1111/ACEL.13649
- Kraus, J., Travis, S. M., King, M. R. and Petry, S., Augmin Is a Ran-Regulated Spindle Assembly Factor, *The Journal of Biological Chemistry*, vol. **299**, no. 6, p. 104736, accessed October 26, 2023, from </pmc/articles/PMC10318467/>, June 1, 2023. DOI: 10.1016/J.JBC.2023.104736
- Krenn, V. and Musacchio, A., The Aurora B Kinase in Chromosome Bi-Orientation and Spindle Checkpoint Signaling, *Frontiers in Oncology*, vol. **5**, no. OCT, accessed October 5, 2023, from </pmc/articles/PMC4607871/>, 2015. DOI: 10.3389/FONC.2015.00225
- Kruse, T., Zhang, G., Larsen, M. S. Y., Lischetti, T., Streicher, W., Nielsen, T. K., Bjørn, S. P. and Nilsson, J., Direct Binding between BubR1 and B56-PP2A Phosphatase Complexes Regulate Mitotic Progression, *Journal of Cell Science*, vol. **126**, no. Pt 5, pp. 1086–92,

- accessed October 22, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23345399/>, March 1, 2013. DOI: 10.1242/JCS.122481
- Kudo, N. R., Wassmann, K., Anger, M., Schuh, M., Wirth, K. G., Xu, H., Helmhart, W., et al., Resolution of Chiasmata in Oocytes Requires Separase-Mediated Proteolysis, *Cell*, vol. **126**, no. 1, pp. 135–46, accessed October 1, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16839882/>, July 14, 2006. DOI: 10.1016/J.CELL.2006.05.033
- Kuliev, A., Zlatopolsky, Z., Kirillova, I., Spivakova, J. and Cieslak Janzen, J., Meiosis Errors in over 20,000 Oocytes Studied in the Practice of Preimplantation Aneuploidy Testing, *Reproductive BioMedicine Online*, vol. **22**, no. 1, pp. 2–8, accessed October 12, 2023, January 1, 2011. DOI: 10.1016/J.RBMO.2010.08.014
- Kwon, M., Godinho, S. A., Chandhok, N. S., Ganem, N. J., Azioune, A., They, M. and Pellman, D., Mechanisms to Suppress Multipolar Divisions in Cancer Cells with Extra Centrosomes, *Genes & Development*, vol. **22**, no. 16, pp. 2189–2203, accessed October 26, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18662975/>, August 15, 2008. DOI: 10.1101/GAD.1700908
- Kyogoku, H. and Kitajima, T. S., Large Cytoplasm Is Linked to the Error-Prone Nature of Oocytes, *Developmental Cell*, vol. **41**, no. 3, pp. 287–298.e4, accessed October 2, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28486131/>, May 8, 2017. DOI: 10.1016/J.DEVCEL.2017.04.009
- Lagirand-Cantaloube, J., Ciabrini, C., Charrasse, S., Ferrieres, A., Castro, A., Anahory, T. and Lorca, T., Loss of Centromere Cohesion in Aneuploid Human Oocytes Correlates with Decreased Kinetochore Localization of the Sac Proteins Bub1 and Bubr1, *Scientific Reports*, vol. **7**, accessed October 21, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28287092/>, March 13, 2017. DOI: 10.1038/SREP44001
- Lampson, M. A. and Cheeseman, I. M., Sensing Centromere Tension: Aurora B and the Regulation of Kinetochore Function, *Trends in Cell Biology*, vol. **21**, no. 3, pp. 133–40, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21106376/>, March 2011. DOI: 10.1016/J.TCB.2010.10.007
- Lane, S. I. R., Yun, Y. and Jones, K. T., Timing of Anaphase-Promoting Complex Activation in Mouse Oocytes Is Predicted by Microtubule-Kinetochore Attachment but Not by Bivalent Alignment or Tension, *Development (Cambridge, England)*, vol. **139**, no. 11, pp. 1947–55, accessed October 27, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22513370/>, June 1, 2012. DOI: 10.1242/DEV.077040
- Lane, S. and Kauppi, L., Meiotic Spindle Assembly Checkpoint and Aneuploidy in Males versus Females, *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, vol. **76**, no. 6, pp. 1135–50, accessed August 31, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30564841/>, March 30, 2019. DOI: 10.1007/S00018-018-2986-6
- Langan, T. A., Gautier, J., Lohka, M., Hollingsworth, R., Moreno, S., Nurse, P., Maller, J. and Sclafani, R. A., Mammalian Growth-Associated H1 Histone Kinase: A Homolog of Cdc2+/CDC28 Protein Kinases Controlling Mitotic Entry in Yeast and Frog Cells., *Molecular and Cellular Biology*, vol. **9**, no. 9, p. 3860, accessed October 11, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/362447/>?report=abstract, September 1989. DOI: 10.1128/MCB.9.9.3860

- Lara-Gonzalez, P., Westhorpe, F. G. and Taylor, S. S., The Spindle Assembly Checkpoint, *Current Biology*, vol. **22**, no. 22, pp. R966–80, accessed October 8, 2023, November 20, 2012. DOI: 10.1016/J.CUB.2012.10.006
- Lee, J. and Hirano, T., RAD21L, a Novel Cohesin Subunit Implicated in Linking Homologous Chromosomes in Mammalian Meiosis, *The Journal of Cell Biology*, vol. **192**, no. 2, p. 263, accessed October 24, 2023, from /pmc/articles/PMC3172173/, January 1, 2011. DOI: 10.1083/JCB.201008005
- Lee, J., Kitajima, T. S., Tanno, Y., Yoshida, K., Morita, T., Miyano, T., Miyake, M. and Watanabe, Y., Unified Mode of Centromeric Protection by Shugoshin in Mammalian Oocytes and Somatic Cells, *Nature Cell Biology*, vol. **10**, no. 1, pp. 42–52, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18084284/>, January 2008. DOI: 10.1038/NCB1667
- Legal, T., Hayward, D., Gluszek-Kustusz, A., Blackburn, E. A., Spanos, C., Rappsilber, J., Gruneberg, U. and Welburn, J. P. I., The C-Terminal Helix of BubR1 Is Essential for CENP-E-Dependent Chromosome Alignment, *Journal of Cell Science*, vol. **133**, no. 16, accessed November 1, 2023, from /pmc/articles/PMC7473641/, August 8, 2020. DOI: 10.1242/JCS.246025
- Lipp, J. J., Hirota, T., Poser, I. and Peter, J. M., Aurora B Controls the Association of Condensin I but Not Condensin II with Mitotic Chromosomes, *Journal of Cell Science*, vol. **120**, no. Pt 7, pp. 1245–55, accessed October 18, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17356064/>, April 1, 2007. DOI: 10.1242/JCS.03425
- Lister, L. M., Kouznetsova, A., Hyslop, L. A., Kalleas, D., Pace, S. L., Barel, J. C., Nathan, A., et al., Age-Related Meiotic Segregation Errors in Mammalian Oocytes Are Preceded by Depletion of Cohesin and Sgo2, *Current Biology*, vol. **20**, no. 17, pp. 1511–21, accessed October 19, 2023, September 14, 2010. DOI: 10.1016/J.CUB.2010.08.023
- Liu, H., Rankin, S. and Yu, H., Phosphorylation-Enabled Binding of Sgo1–PP2A to Cohesin Protects Sororin and Centromeric Cohesion during Mitosis, *Nature Cell Biology*, vol. **15**, no. 1, p. 40, accessed October 24, 2023, from /pmc/articles/PMC3531828/, January 2013. DOI: 10.1038/NCB2637
- Liu, L. and Keefe, D. L., Defective Cohesin Is Associated with Age-Dependent Misaligned Chromosomes in Oocytes, *Reproductive Biomedicine Online*, vol. **16**, no. 1, pp. 103–12, accessed October 19, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18252055/>, 2008. DOI: 10.1016/S1472-6483(10)60562-7
- Liu, S.-T. and Zhang, H., The Mitotic Checkpoint Complex (MCC): Looking Back and Forth after 15 Years, *AIMS Molecular Science*, vol. **3**, no. 4, p. 597, accessed October 8, 2023, from /pmc/articles/PMC5597056/, 2016. DOI: 10.3934/MOLSCI.2016.4.597
- Lolli, G. and Johnson, L. N., Cell Cycle CAK-Cyclin-Dependent Activating Kinase: A Key Kinase in Cell Cycle Control and a Target for Drugs?, *Cell Cycle*, vol. **4**, pp. 572–77, accessed September 3, 2023, from <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=kccy20http://www.landesbioscience.com/journals/cc/abstract.php?id=1607>, 2005. DOI: 10.4161/cc.4.4.1607
- London, N., Ceto, S., Ranish, J. A. and Biggins, S., Phosphoregulation of Spc105 by Mps1 and PP1 Regulates Bub1 Localization to Kinetochores, *Current Biology : CB*, vol. **22**, no. 10, pp. 900–906, accessed October 8, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22521787/>, May 22, 2012. DOI: 10.1016/J.CUB.2012.03.052

- Lorca, T., Cruzalegui, F. H., Fesquet, D., Cavadore, J. C., Méry, J., Means, A. and Dorée, M., Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Mediates Inactivation of MPF and CSF upon Fertilization of *Xenopus* Eggs, *Nature*, vol. **366**, no. 6452, pp. 270–73, accessed October 31, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8232587/>, 1993. DOI: 10.1038/366270A0
- Maiato, H. and Silva, S., Double-Checking Chromosome Segregation, *The Journal of Cell Biology*, vol. **222**, no. 5, accessed October 29, 2023, from [/pmc/articles/PMC10082326/](https://pmc/articles/PMC10082326/), May 5, 2023. DOI: 10.1083/JCB.202301106
- Malumbres, M. and Barbacid, M., Cell Cycle, CDKs and Cancer: A Changing Paradigm, *Nature Reviews. Cancer*, vol. **9**, no. 3, pp. 153–66, accessed August 21, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19238148/>, March 2009. DOI: 10.1038/NRC2602
- Marangos, P., Verschuren, E. W., Chen, R., Jackson, P. K. and Carroll, J., Prophase I Arrest and Progression to Metaphase I in Mouse Oocytes Are Controlled by Emi1-Dependent Regulation of APC(Cdh1), *The Journal of Cell Biology*, vol. **176**, no. 1, pp. 65–75, accessed September 14, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17190794/>, January 1, 2007. DOI: 10.1083/JCB.200607070
- Maresca, T. J., Groen, A. C., Gatlin, J. C., Ohi, R., Mitchison, T. J. and Salmon, E. D., Spindle Assembly in the Absence of a RanGTP Gradient Requires Localized CPC Activity, *Current Biology : CB*, vol. **19**, no. 14, p. 1210, accessed October 26, 2023, from [/pmc/articles/PMC2752711/](https://pmc/articles/PMC2752711/), July 7, 2009. DOI: 10.1016/J.CUB.2009.05.061
- Maresca, T. J. and Salmon, E. D., Intrakinetochores Stretch Is Associated with Changes in Kinetochore Phosphorylation and Spindle Assembly Checkpoint Activity, *The Journal of Cell Biology*, vol. **184**, no. 3, pp. 373–81, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19193623/>, February 9, 2009. DOI: 10.1083/JCB.200808130
- Margottin-Goguet, F., Hsu, J. Y., Loktev, A., Hsieh, H. M., Reimann, J. D. R. and Jackson, P. K., Prophase Destruction of Emi1 by the SCF β TrCP/Slimb Ubiquitin Ligase Activates the Anaphase Promoting Complex to Allow Progression beyond Prometaphase, *Developmental Cell*, vol. **4**, no. 6, pp. 813–26, accessed October 13, 2023, June 1, 2003. DOI: 10.1016/S1534-5807(03)00153-9
- Marston, A. L. and Wassmann, K., Multiple Duties for Spindle Assembly Checkpoint Kinases in Meiosis, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. **5**, no. DEC, p. 109, accessed August 25, 2023, from [/pmc/articles/PMC5733479/](https://pmc/articles/PMC5733479/), December 13, 2017. DOI: 10.3389/FCCELL.2017.00109
- McAinsh, A. D. and Meraldi, P., The CCAN Complex: Linking Centromere Specification to Control of Kinetochore-Microtubule Dynamics, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, vol. **22**, no. 9, pp. 946–52, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22027615/>, 2011. DOI: 10.1016/J.SEMCDB.2011.09.016
- McGee, E. A. and Hsueh, A. J. W., Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles, *Endocrine Reviews*, vol. **21**, no. 2, pp. 200–214, accessed July 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10782364/>, April 1, 2000. DOI: 10.1210/EDRV.21.2.0394
- McGuinness, B. E., Anger, M., Kouznetsova, A., Gil-Bernabé, A. M., Helmhart, W., Kudo, N. R., Wuensche, A., et al., Regulation of APC/C Activity in Oocytes by a Bub1-Dependent Spindle Assembly Checkpoint, *Current Biology : CB*, vol. **19**, no. 5, pp. 369–80, accessed

- October 9, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19249208/>, March 10, 2009. DOI: 10.1016/J.CUB.2009.01.064
- McGuinness, B. E., Hirota, T., Kudo, N. R., Peters, J. M. and Nasmyth, K., Shugoshin Prevents Dissociation of Cohesin from Centromeres during Mitosis in Vertebrate Cells, *PLoS Biology*, vol. **3**, no. 3, pp. 0433–49, accessed October 15, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15737064/>, March 2005. DOI: 10.1371/JOURNAL.PBIO.0030086
- McHugh, T. and Welburn, J. P. I., Potent Microtubule-Depolymerizing Activity of a Mitotic Kif18b-MCAK-EB Network, *Journal of Cell Science*, vol. **136**, no. 5, accessed November 1, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35502670/>, March 1, 2023. DOI: 10.1242/JCS.260144
- McLaren, A., Primordial Germ Cells in the Mouse, *Developmental Biology*, vol. **262**, no. 1, pp. 1–15, accessed July 6, 2023, October 1, 2003. DOI: 10.1016/S0012-1606(03)00214-8
- Meraldi, P., Lukas, J., Fry, A. M., Bartek, J. and Nigg, E. A., Centrosome Duplication in Mammalian Somatic Cells Requires E2F and Cdk2-Cyclin A, *Nature Cell Biology*, vol. **1**, no. 2, pp. 88–93, accessed October 23, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10559879/>, 1999. DOI: 10.1038/10054
- Meunier, S. and Vernos, I., Acentrosomal Microtubule Assembly in Mitosis: The Where, When, and How, *Trends in Cell Biology*, vol. **26**, no. 2, pp. 80–87, accessed October 26, 2023, February 1, 2016. DOI: 10.1016/J.TCB.2015.09.001
- Mihajlović, A. I., Byers, C., Reinholdt, L. and FitzHarris, G., Spindle Assembly Checkpoint Insensitivity Allows Meiosis-II despite Chromosomal Defects in Aged Eggs, *EMBO Reports*, p. e57227, accessed November 3, 2023, from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.15252/embr.202357227>, October 5, 2023. DOI: 10.15252/EMBR.202357227
- Monda, J. K. and Cheeseman, I. M., The Kinetochore–Microtubule Interface at a Glance, *Journal of Cell Science*, vol. **131**, no. 16, accessed October 21, 2023, from </pmc/articles/PMC6127730/>, August 8, 2018. DOI: 10.1242/JCS.214577
- Murray, A. W., Recycling the Cell Cycle: Cyclins Revisited, *Cell*, vol. **116**, no. 2, pp. 221–34, accessed August 22, 2023, from <http://www.cell.com/article/S0092867403010808/fulltext>, January 23, 2004. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)01080-8
- Musacchio, A., The Molecular Biology of Spindle Assembly Checkpoint Signaling Dynamics, *Current Biology*, vol. **25**, no. 20, pp. R1002–18, accessed October 8, 2023, October 19, 2015. DOI: 10.1016/J.CUB.2015.08.051
- Musacchio, A. and Desai, A., A Molecular View of Kinetochore Assembly and Function, *Biology*, vol. **6**, no. 1, accessed October 6, 2023, from </pmc/articles/PMC5371998/>, March 1, 2017. DOI: 10.3390/BIOLOGY6010005
- Musacchio, A. and Salmon, E. D., The Spindle-Assembly Checkpoint in Space and Time, *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, vol. **8**, no. 5, pp. 379–93, accessed October 15, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17426725/>, May 2007. DOI: 10.1038/NRM2163
- Nabti, I., Grimes, R., Sarna, H., Marangos, P. and Carroll, J., Maternal Age-Dependent APC/C-Mediated Decrease in Securin Causes Premature Sister Chromatid Separation in Meiosis II, *Nature Communications*, vol. **8**, accessed October 21, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28516917/>, May 18, 2017. DOI: 10.1038/NCOMMS15346

- Nachury, M. V., Maresca, T. J., Salmon, W. C., Waterman-Storer, C. M., Heald, R. and Weis, K., Importin Beta Is a Mitotic Target of the Small GTPase Ran in Spindle Assembly, *Cell*, vol. **104**, no. 1, pp. 95–106, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11163243/>, January 12, 2001. DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00194-5
- Nagaoka, S. I., Hassold, T. J. and Hunt, P. A., Human Aneuploidy: Mechanisms and New Insights into an Age-Old Problem, *Nature Reviews. Genetics*, vol. **13**, no. 7, p. 493, accessed October 2, 2023, from </pmc/articles/PMC3551553/>, July 2012. DOI: 10.1038/NRG3245
- Nakayama, K. I. and Nakayama, K., Ubiquitin Ligases: Cell-Cycle Control and Cancer, *Nature Reviews. Cancer*, vol. **6**, no. 5, pp. 369–81, accessed August 23, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16633365/>, May 2006. DOI: 10.1038/NRC1881
- Nguyen, A. L., Drutovic, D., Vazquez, B. N., Yakoubi, W. El, Gentilello, A. S., Malumbres, M., Solc, P. and Schindler, K., Genetic Interactions between the Aurora Kinases Reveal New Requirements for AURKB and AURKC during Oocyte Meiosis, *Current Biology : CB*, vol. **28**, no. 21, pp. 3458-3468.e5, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30415701/>, November 5, 2018. DOI: 10.1016/J.CUB.2018.08.052
- Niault, T., Hached, K., Sotillo, R., Sorger, P. K., Maro, B., Benezra, R. and Wassmann, K., Changing Mad2 Levels Affects Chromosome Segregation and Spindle Assembly Checkpoint Control in Female Mouse Meiosis I, *PLoS ONE*, vol. **2**, no. 11, accessed October 9, 2023, November 28, 2007. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0001165
- Nicklas, R. B., How Cells Get the Right Chromosomes, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **275**, no. 5300, accessed October 30, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9005842/>, January 31, 1997. DOI: 10.1126/SCIENCE.275.5300.632
- Nikalayevich, E., Jailani, S. El, Dupré, A., Cladière, D., Gryaznova, Y., Fosse, C., Buffin, E., Touati, S. A. and Wassmann, K., Aurora B/C-Dependent Phosphorylation Promotes Rec8 Cleavage in Mammalian Oocytes, *Current Biology*, vol. **32**, no. 10, pp. 2281-2290.e4, accessed October 25, 2023, May 23, 2022. DOI: 10.1016/J.CUB.2022.03.041
- Nishiyama, T., Ladurner, R., Schmitz, J., Kreidl, E., Schleiffer, A., Bhaskara, V., Bando, M., et al., Sororin Mediates Sister Chromatid Cohesion by Antagonizing Wapl, *Cell*, vol. **143**, no. 5, pp. 737–49, accessed October 23, 2023, November 24, 2010. DOI: 10.1016/J.CELL.2010.10.031
- Norris, R. P., Freudzon, M., Mehlmann, L. M., Cowan, A. E., Simon, A. M., Paul, D. L., Lampe, P. D. and Jaffe, L. A., Luteinizing Hormone Causes MAP Kinase-Dependent Phosphorylation and Closure of Connexin 43 Gap Junctions in Mouse Ovarian Follicles: One of Two Paths to Meiotic Resumption, *Development (Cambridge, England)*, vol. **135**, no. 19, p. 3229, accessed October 13, 2023, from </pmc/articles/PMC2572224/>, 2008. DOI: 10.1242/DEV.025494
- Norris, R. P., Ratzan, W. J., Freudzon, M., Mehlmann, L. M., Krall, J., Movsesian, M. A., Wang, H., Ke, H., Nikolaev, V. O. and Jaffe, L. A., Cyclic GMP from the Surrounding Somatic Cells Regulates Cyclic AMP and Meiosis in the Mouse Oocyte, *Development (Cambridge, England)*, vol. **136**, no. 11, p. 1869, accessed October 12, 2023a, from </pmc/articles/PMC2680110/>, June 6, 2009. DOI: 10.1242/DEV.035238
- Norris, R. P., Ratzan, W. J., Freudzon, M., Mehlmann, L. M., Krall, J., Movsesian, M. A., Wang, H., Ke, H., Nikolaev, V. O. and Jaffe, L. A., Cyclic GMP from the Surrounding Somatic Cells Regulates Cyclic AMP and Meiosis in the Mouse Oocyte, *Development (Cambridge,*

- England), vol. **136**, no. 11, p. 1869, accessed September 14, 2023b, from [/pmc/articles/PMC2680110/](#), June 6, 2009. DOI: 10.1242/DEV.035238
- Nybo Andersen, A. M., Wohlfahrt, J., Christens, P., Olsen, J. and Melbye, M., Maternal Age and Fetal Loss: Population Based Register Linkage Study, *BMJ (Clinical Research Ed.)*, vol. **320**, no. 7251, pp. 1708–12, accessed October 2, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10864550/>, June 24, 2000. DOI: 10.1136/BMJ.320.7251.1708
- Oh, J. S., Han, S. J. and Conti, M., Wee1B, Myt1, and Cdc25 Function in Distinct Compartments of the Mouse Oocyte to Control Meiotic Resumption, *The Journal of Cell Biology*, vol. **188**, no. 2, p. 199, accessed September 3, 2023, from [/pmc/articles/PMC2812522/](#), January 1, 2010. DOI: 10.1083/JCB.200907161
- Oh, J. S., Susor, A., Schindler, K., Schultz, R. M. and Conti, M., Cdc25A Activity Is Required for the Metaphase II Arrest in Mouse Oocytes, *Journal of Cell Science*, vol. **126**, no. 5, pp. 1081–85, accessed October 28, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23345398/>, March 1, 2013. DOI: 10.1242/JCS.115592/-/DC1
- Ohkura, H., Meiosis: An Overview of Key Differences from Mitosis, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, vol. **7**, no. 5, pp. 1–15, accessed August 30, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25605710/>, 2015. DOI: 10.1101/CSHPERSPECT.A015859
- Ono, T., Fang, Y., Spector, D. L. and Hirano, T., Spatial and Temporal Regulation of Condensins I and II in Mitotic Chromosome Assembly in Human Cells, *Molecular Biology of the Cell*, vol. **15**, no. 7, pp. 3296–3308, accessed October 18, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15146063/>, July 2004. DOI: 10.1091/MBC.E04-03-0242
- Overlack, K., Bange, T., Weissmann, F., Faesen, A. C., Maffini, S., Primorac, I., Müller, F., Peters, J. M. and Musacchio, A., BubR1 Promotes Bub3-Dependent APC/C Inhibition during Spindle Assembly Checkpoint Signaling, *Current Biology*, vol. **27**, no. 19, p. 2915, accessed October 9, 2023, from [/pmc/articles/PMC5640511/](#), October 10, 2017. DOI: 10.1016/J.CUB.2017.08.033
- Pal, D., Torres, A. E., Stromberg, B. R., Messina, A. L., Dickson, A. S., De, K., Willard, B., Venere, M. and Summers, M. K., Chk1-Mediated Phosphorylation of Cdh1 Promotes the SCF β TRCP-Dependent Degradation of Cdh1 during S-Phase and Efficient Cell-Cycle Progression, *Cell Death & Disease 2020 11:4*, vol. **11**, no. 4, pp. 1–15, accessed September 3, 2023, from <https://www.nature.com/articles/s41419-020-2493-1>, April 28, 2020. DOI: 10.1038/s41419-020-2493-1
- Peter, M., Nakagawa, J., Dorée, M., Labbé, J. C. and Nigg, E. A., In Vitro Disassembly of the Nuclear Lamina and M Phase-Specific Phosphorylation of Lamins by Cdc2 Kinase, *Cell*, vol. **61**, no. 4, pp. 591–602, accessed September 3, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2188731/>, May 18, 1990. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90471-P
- Peters, J. M., The Anaphase-Promoting Complex: Proteolysis in Mitosis and Beyond, *Molecular Cell*, vol. **9**, no. 5, pp. 931–43, accessed October 31, 2023, May 1, 2002. DOI: 10.1016/S1097-2765(02)00540-3
- Peters, J. M. and Nishiyama, T., Sister Chromatid Cohesion, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, vol. **4**, no. 11, accessed October 15, 2023, from [/pmc/articles/PMC3536341/](#), November 2012. DOI: 10.1101/CSHPERSPECT.A011130

- Pillan, A., Tavernier, N. and Pintard, L., Le Baiser de La Vie - Aurora A Enlace Le Phosphate de Son Cofacteur Bora Pour Déclencher l'entrée En Mitose, *Médecine/Sciences*, vol. **38**, no. 4, pp. 345–47, accessed October 14, 2023, from https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/full_html/2022/04/msc200728/msc200728.html, April 1, 2022. DOI: 10.1051/MEDSCI/2022033
- Piotrowska, H., Kempisty, B., Sosinska, P., Ciesiolka, S., Bukowska, D., Antosik, P., Rybska, M., Brussow, K. P., Nowicki, M. and Zabel, M., The Role of TGF Superfamily Gene Expression in the Regulation of Folliculogenesis and Oogenesis in Mammals: A Review, *Veterinarni Medicina*, vol. **58**, no. 10, pp. 505–15, accessed July 6, 2023, 2013.
- Pirino, G., Wesco, M. P. and Donovan, P. J., Protein Kinase A Regulates Resumption of Meiosis by Phosphorylation of Cdc25B in Mammalian Oocytes, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, vol. **8**, no. 4, pp. 665–70, accessed September 12, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19223768/>, February 15, 2009. DOI: 10.4161/CC.8.4.7846
- Prigent, C. and Uzbekov, R., Duplication and Segregation of Centrosomes during Cell Division, *Cells*, vol. **11**, no. 15, accessed September 28, 2023, from </pmc/articles/PMC9367774/>, August 1, 2022. DOI: 10.3390/CELLS11152445
- Rankin, S., Complex Elaboration: Making Sense of Meiotic Cohesin Dynamics, *The FEBS Journal*, vol. **282**, no. 13, p. 2413, accessed October 19, 2023, from </pmc/articles/PMC4490075/>, July 1, 2015. DOI: 10.1111/FEBS.13301
- Rattani, A., Wolna, M., Ploquin, M., Helmhart, W., Morrone, S., Mayer, B., Godwin, J., et al., Sgol2 Provides a Regulatory Platform That Coordinates Essential Cell Cycle Processes during Meiosis I in Oocytes, *ELife*, vol. **2013**, no. 2, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24192037/>, November 5, 2013. DOI: 10.7554/ELIFE.01133.001
- Rauh, N. R., Schmidt, A., Bormann, J., Nigg, E. A. and Mayer, T. U., Calcium Triggers Exit from Meiosis II by Targeting the APC/C Inhibitor XErp1 for Degradation, *Nature*, vol. **437**, no. 7061, pp. 1048–52, accessed October 31, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16127448/>, October 13, 2005. DOI: 10.1038/NATURE04093
- Reimann, J. D. R., Freed, E., Hsu, J. Y., Kramer, E. R., Peters, J. M. and Jackson, P. K., Emi1 Is a Mitotic Regulator That Interacts with Cdc20 and Inhibits the Anaphase Promoting Complex, *Cell*, vol. **105**, no. 5, pp. 645–55, accessed August 24, 2023, June 1, 2001. DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00361-0
- Ren, B., Cam, H., Takahashi, Y., Volkert, T., Terragni, J., Young, R. A. and Dynlacht, B. D., E2F Integrates Cell Cycle Progression with DNA Repair, Replication, and G2/M Checkpoints, *Genes & Development*, vol. **16**, no. 2, p. 245, accessed September 27, 2023, from </pmc/articles/PMC155321/>, January 1, 2002. DOI: 10.1101/GAD.949802
- Richard McIntosh, J., Mitosis, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, vol. **8**, no. 9, accessed October 1, 2023, from </pmc/articles/PMC5008068/>, September 1, 2016. DOI: 10.1101/CSHPERSPECT.A023218
- Riedel, C. G., Katis, V. L., Katou, Y., Mori, S., Itoh, T., Helmhart, W., Gálová, M., et al., Protein Phosphatase 2A Protects Centromeric Sister Chromatid Cohesion during Meiosis I, *Nature* 2006 441:7089, vol. **441**, no. 7089, pp. 53–61, accessed October 25, 2023, from <https://www.nature.com/articles/nature04664>, March 15, 2006. DOI: 10.1038/nature04664

- Rodionov, V. I. and Borisy, G. G., Microtubule Treadmilling in Vivo, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **275**, no. 5297, pp. 215–20, accessed October 9, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8985015/>, January 10, 1997. DOI: 10.1126/SCIENCE.275.5297.215
- Roskoski, R., Cyclin-Dependent Protein Serine/Threonine Kinase Inhibitors as Anticancer Drugs, *Pharmacological Research*, vol. **139**, pp. 471–88, accessed August 21, 2023, January 1, 2019. DOI: 10.1016/J.PHRS.2018.11.035
- Rumpf, C., Cipak, L., Dudas, A., Benko, Z., Pozgajova, M., Riedel, C. G., Ammerer, G., Mechtler, K. and Gregan, J., Casein Kinase 1 Is Required for Efficient Removal of Rec8 during Meiosis I, *Cell Cycle*, vol. **9**, no. 13, p. 2657, accessed October 25, 2023, from </pmc/articles/PMC3083834/>, July 7, 2010. DOI: 10.4161/CC.9.13.12146
- Sanders, J. R. and Jones, K. T., Regulation of the Meiotic Divisions of Mammalian Oocytes and Eggs, *Biochemical Society Transactions*, vol. **46**, no. 4, pp. 797–806, accessed October 11, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29934303/>, June 22, 2018. DOI: 10.1042/BST20170493
- Santaguida, S., Tighe, A., D'Alise, A. M., Taylor, S. S. and Musacchio, A., Dissecting the Role of MPS1 in Chromosome Biorientation and the Spindle Checkpoint through the Small Molecule Inhibitor Reversine, *The Journal of Cell Biology*, vol. **190**, no. 1, pp. 73–87, accessed October 8, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20624901/>, July 12, 2010. DOI: 10.1083/JCB.201001036
- Satyanarayana, A. and Kaldis, P., Mammalian Cell-Cycle Regulation: Several Cdks, Numerous Cyclins and Diverse Compensatory Mechanisms, *Oncogene*, vol. **28**, no. 33, pp. 2925–39, accessed September 1, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19561645/>, August 20, 2009. DOI: 10.1038/ONC.2009.170
- Schuh, M. and Ellenberg, J., Self-Organization of MTOCs Replaces Centrosome Function during Acentrosomal Spindle Assembly in Live Mouse Oocytes, *Cell*, vol. **130**, no. 3, pp. 484–98, accessed October 24, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17693257/>, August 10, 2007. DOI: 10.1016/J.CELL.2007.06.025
- Sedó, C. A., Schatten, H., Combelles, C. M. and Rawe, V. Y., The Nuclear Mitotic Apparatus (NuMA) Protein: Localization and Dynamics in Human Oocytes, Fertilization and Early Embryos., *Molecular Human Reproduction*, vol. **17**, no. 6, pp. 392–98, accessed October 26, 2023, from <https://europepmc.org/article/med/21297155>, February 5, 2011. DOI: 10.1093/MOLEHR/GAR009
- Seibert, M., Krüger, M., Watson, N. A., Sen, O., Daum, J. R., Slotman, J. A., Braun, T., et al., CDK1-Mediated Phosphorylation at H2B Serine 6 Is Required for Mitotic Chromosome Segregation, *The Journal of Cell Biology*, vol. **218**, no. 4, p. 1164, accessed October 11, 2023, from </pmc/articles/PMC6446833/>, April 4, 2019. DOI: 10.1083/JCB.201806057
- Seki, A., Coppinger, J. A., Jang, C. Y., Yates, J. R. and Fang, G., Bora and the Kinase Aurora a Cooperatively Activate the Kinase Plk1 and Control Mitotic Entry, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **320**, no. 5883, pp. 1655–58, accessed October 17, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18566290/>, June 20, 2008. DOI: 10.1126/SCIENCE.1157425
- Sela-Abramovich, S., Galiani, D., Nevo, N. and Dekel, N., Inhibition of Rat Oocyte Maturation and Ovulation by Nitric Oxide: Mechanism of Action, *Biology of Reproduction*, vol. **78**, no. 6, pp. 1111–18, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18337515/>, June 2008. DOI: 10.1095/BIOLREPROD.107.065490

- Shimamoto, Y., Forth, S. and Kapoor, T. M., Measuring Pushing and Braking Forces Generated by Ensembles of Kinesin-5 Crosslinking Two Microtubules, *Developmental Cell*, vol. **34**, no. 6, p. 669, accessed November 2, 2023, from /pmc/articles/PMC4604754/, September 9, 2015. DOI: 10.1016/J.DEVCEL.2015.08.017
- Shintomi, K. and Hirano, T., Releasing Cohesin from Chromosome Arms in Early Mitosis: Opposing Actions of Wapl–Pds5 and Sgo1, *Genes & Development*, vol. **23**, no. 18, p. 2224, accessed October 23, 2023, from /pmc/articles/PMC2751989/, September 9, 2009. DOI: 10.1101/GAD.1844309
- Shoji, S., Yoshida, N., Amanai, M., Ohgishi, M., Fukui, T., Fujimoto, S., Nakano, Y., Kajikawa, E. and Perry, A. C. F., Mammalian Emi2 Mediates Cytostatic Arrest and Transduces the Signal for Meiotic Exit via Cdc20, *The EMBO Journal*, vol. **25**, no. 4, p. 834, accessed October 31, 2023, from /pmc/articles/PMC1383546/, February 2, 2006. DOI: 10.1038/SJ.EMBOJ.7600953
- Shrestha, R. L. and Draviam, V. M., Lateral to End-on Conversion of Chromosome-Microtubule Attachment Requires Kinesins CENP-E and MCAK, *Current Biology : CB*, vol. **23**, no. 16, pp. 1514–26, accessed October 21, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23891108/>, August 19, 2013. DOI: 10.1016/J.CUB.2013.06.040
- Silk, A. D., Holland, A. J. and Cleveland, D. W., Requirements for NuMA in Maintenance and Establishment of Mammalian Spindle Poles, *The Journal of Cell Biology*, vol. **184**, no. 5, pp. 677–90, accessed October 26, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19255246/>, March 9, 2009. DOI: 10.1083/JCB.200810091
- Simon, D. N. and Wilson, K. L., Partners and Post-Translational Modifications of Nuclear Lamins, *Chromosoma*, vol. **122**, no. 0, p. 13, accessed September 3, 2023, from /pmc/articles/PMC3619935/, March 2013. DOI: 10.1007/S00412-013-0399-8
- Skoufias, D. A., DeBonis, S., Saoudi, Y., Lebeau, L., Crevel, I., Cross, R., Wade, R. H., Hackney, D. and Kozielski, F., S-Trityl-L-Cysteine Is a Reversible, Tight Binding Inhibitor of the Human Kinesin Eg5 That Specifically Blocks Mitotic Progression, *Journal of Biological Chemistry*, vol. **281**, no. 26, pp. 17559–69, accessed October 30, 2023, from <http://www.jbc.org/article/S0021925820556275/fulltext>, June 30, 2006. DOI: 10.1074/jbc.M511735200
- Solc, P., Schultz, R. M. and Motlik, J., Prophase I Arrest and Progression to Metaphase I in Mouse Oocytes: Comparison of Resumption of Meiosis and Recovery from G2-Arrest in Somatic Cells, *Molecular Human Reproduction*, vol. **16**, no. 9, pp. 654–64, accessed September 14, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20453035/>, May 7, 2010. DOI: 10.1093/MOLEHR/GAQ034
- Suijkerbuijk, S. J. E., Vleugel, M., Teixeira, A. and Kops, G. J. P. L., Integration of Kinase and Phosphatase Activities by BUBR1 Ensures Formation of Stable Kinetochore-Microtubule Attachments, *Developmental Cell*, vol. **23**, no. 4, pp. 745–55, accessed October 27, 2023, October 16, 2012. DOI: 10.1016/J.DEVCEL.2012.09.005
- Tachibana-Konwalski, K., Godwin, J., Weyden, L. Van Der, Champion, L., Kudo, N. R., Adams, D. J. and Nasmyth, K., Rec8-Containing Cohesin Maintains Bivalents without Turnover during the Growing Phase of Mouse Oocytes, *Genes & Development*, vol. **24**, no. 22, p. 2505, accessed October 18, 2023, from /pmc/articles/PMC2975927/, November 11, 2010. DOI: 10.1101/GAD.605910

- Terret, M. E., Wassmann, K., Waizenegger, I., Maro, B., Peters, J. M. and Verlhac, M. H., The Meiosis I-to-Meiosis II Transition in Mouse Oocytes Requires Separase Activity, *Current Biology*, vol. **13**, no. 20, pp. 1797–1802, accessed October 1, 2023, from <http://www.cell.com/article/S0960982203007012/fulltext>, October 14, 2003. DOI: 10.1016/j.cub.2003.09.032
- Thomas, C., Cavazza, T. and Schuh, M., Aneuploidy in Human Eggs: Contributions of the Meiotic Spindle, *Biochemical Society Transactions*, vol. **49**, no. 1, p. 107, accessed October 2, 2023, from </pmc/articles/PMC7925012/>, February 2, 2021. DOI: 10.1042/BST20200043
- Tipton, A. R., Ji, W., Sturt-Gillespie, B., Bekier, M. E., Wang, K., Taylor, W. R. and Liu, S. T., Monopolar Spindle 1 (MPS1) Kinase Promotes Production of Closed MAD2 (C-MAD2) Conformer and Assembly of the Mitotic Checkpoint Complex, *The Journal of Biological Chemistry*, vol. **288**, no. 49, pp. 35396–405, accessed November 1, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24151075/>, December 6, 2013. DOI: 10.1074/JBC.M113.522375
- Tornell, J., Billig, H. and Hillensjo, T., Resumption of Rat Oocyte Meiosis Is Paralleled by a Decrease in Guanosine 3',5'-Cyclic Monophosphate (CGMP) and Is Inhibited by Microinjection of CGMP, *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. **139**, no. 3, pp. 511–17, accessed October 12, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2173353/>, 1990. DOI: 10.1111/J.1748-1716.1990.TB08953.X
- Touati, S. A., Buffin, E., Cladière, D., Hached, K., Rachez, C., Deursen, J. M. Van and Wassmann, K., Mouse Oocytes Depend on BubR1 for Proper Chromosome Segregation but Not for Prophase I Arrest, *Nature Communications*, vol. **6**, accessed October 9, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25897860/>, April 21, 2015. DOI: 10.1038/NCOMMS7946
- Touati, S. A., Cladière, D., Lister, L. M., Leontiou, I., Chambon, J. P., Rattani, A., Böttger, F., et al., Cyclin A2 Is Required for Sister Chromatid Segregation, but Not Separase Control, in Mouse Oocyte Meiosis, *Cell Reports*, vol. **2**, no. 5, pp. 1077–87, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23122964/>, November 29, 2012. DOI: 10.1016/J.CELREP.2012.10.002
- Tsai, C. Y., Ngo, B., Tapadia, A., Hsu, P. H., Wu, G. and Lee, W. H., Aurora-A Phosphorylates Augmin Complex Component Hice1 Protein at an N-Terminal Serine/Threonine Cluster to Modulate Its Microtubule Binding Activity during Spindle Assembly, *The Journal of Biological Chemistry*, vol. **286**, no. 34, pp. 30097–106, accessed October 26, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21705324/>, August 26, 2011. DOI: 10.1074/JBC.M111.266767
- Tsurumi, C., Hoffmann, S., Geley, S., Graeser, R. and Polanski, Z., The Spindle Assembly Checkpoint Is Not Essential for CSF Arrest of Mouse Oocytes, *The Journal of Cell Biology*, vol. **167**, no. 6, p. 1037, accessed October 11, 2023a, from </pmc/articles/PMC2172623/>, December 12, 2004. DOI: 10.1083/JCB.200405165
- Tsurumi, C., Hoffmann, S., Geley, S., Graeser, R. and Polanski, Z., The Spindle Assembly Checkpoint Is Not Essential for CSF Arrest of Mouse Oocytes, *The Journal of Cell Biology*, vol. **167**, no. 6, pp. 1037–50, accessed October 9, 2023b, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15611331/>, December 20, 2004. DOI: 10.1083/JCB.200405165
- Tung, J. J. and Jackson, P. K., Emi1 Class of Proteins Regulate Entry into Meiosis and the Meiosis I to Meiosis II Transition in *Xenopus* Oocytes, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, vol.

- 4, no. 3, pp. 478–82, accessed September 16, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15701974/>, 2005. DOI: 10.4161/CC.4.3.1532
- Vagnarelli, P. and Earnshaw, W. C., Chromosomal Passengers: The Four-Dimensional Regulation of Mitotic Events, *Chromosoma*, vol. **113**, no. 5, pp. 211–22, accessed October 5, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15351889/>, November 2004. DOI: 10.1007/S00412-004-0307-3
- Vallot, A., Leontiou, I., Cladière, D., Yakoubi, W. El, Bolte, S., Buffin, E. and Wassmann, K., Tension-Induced Error Correction and Not Kinetochore Attachment Status Activates the SAC in an Aurora-B/C-Dependent Manner in Oocytes, *Current Biology : CB*, vol. **28**, no. 1, pp. 130–139.e3, accessed October 30, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29276128/>, January 8, 2018. DOI: 10.1016/J.CUB.2017.11.049
- Vigneron, S., Prieto, S., Bernis, C., Labbé, J. C., Castro, A. and Lorca, T., Kinetochore Localization of Spindle Checkpoint Proteins: Who Controls Whom?, *Molecular Biology of the Cell*, vol. **15**, no. 10, pp. 4584–96, accessed October 8, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15269280/>, October 2004. DOI: 10.1091/MBC.E04-01-0051
- Vigneron, S., Robert, P., Hached, K., Sundermann, L., Charrasse, S., Labbé, J. C., Castro, A. and Lorca, T., The Master Greatwall Kinase, a Critical Regulator of Mitosis and Meiosis, *The International Journal of Developmental Biology*, vol. **60**, no. 7–8–9, pp. 245–54, accessed September 30, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27759153/>, 2016. DOI: 10.1387/IJDB.160155TL
- Viveiros, M. M. and La Fuente, R. De, Regulation of Mammalian Oocyte Maturation, *The Ovary*, pp. 165–80, accessed October 12, 2023, January 1, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-12-813209-8.00011-X
- Waizenegger, I. C., Hauf, S., Meinke, A. and Peters, J. M., Two Distinct Pathways Remove Mammalian Cohesin from Chromosome Arms in Prophase and from Centromeres in Anaphase, *Cell*, vol. **103**, no. 3, pp. 399–410, accessed October 24, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11081627/>, October 27, 2000. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)00132-X
- Wandke, C., Barisic, M., Sigl, R., Rauch, V., Wolf, F., Amaro, A. C., Tan, C. H., et al., Human Chromokinesins Promote Chromosome Congression and Spindle Microtubule Dynamics during Mitosis, *The Journal of Cell Biology*, vol. **198**, no. 5, pp. 847–63, accessed October 21, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22945934/>, September 2012. DOI: 10.1083/JCB.201110060
- Wang, X., Wang, L. and Xiang, W., Mechanisms of Ovarian Aging in Women: A Review, *Journal of Ovarian Research*, vol. **16**, no. 1, p. 67, accessed October 19, 2023, from </pmc/articles/PMC10080932/>, December 1, 2023. DOI: 10.1186/S13048-023-01151-Z
- Wassmann, K., Sister Chromatid Segregation in Meiosis II: Deprotection through Phosphorylation, *Cell Cycle*, vol. **12**, no. 9, p. 1352, accessed October 20, 2023, from </pmc/articles/PMC3674063/>, May 5, 2013. DOI: 10.4161/CC.24600
- Wassmann, K., Niaux, T. and Maro, B., Metaphase I Arrest upon Activation of the Mad2-Dependent Spindle Checkpoint in Mouse Oocytes, *Current Biology : CB*, vol. **13**, no. 18, pp. 1596–1608, accessed October 9, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13678590/>, September 16, 2003. DOI: 10.1016/J.CUB.2003.08.052

- Watanabe, Y., Kitajima, T. S., Hyman, T., Yanagida, M. and Hirano, T., Shugoshin Protects Cohesin Complexes at Centromeres, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, vol. **360**, no. 1455, pp. 515–21, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15897177/>, March 29, 2005. DOI: 10.1098/RSTB.2004.1607
- Watson, E. R., Brown, N. G., Peters, J. M., Stark, H. and Schulman, B. A., Posing the APC/C E3 Ubiquitin Ligase to Orchestrate Cell Division, *Trends in Cell Biology*, vol. **29**, no. 2, pp. 117–34, accessed August 24, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30482618/>, February 1, 2019. DOI: 10.1016/J.TCB.2018.09.007
- Wear, H. M., McPike, M. J. and Watanabe, K. H., From Primordial Germ Cells to Primordial Follicles: A Review and Visual Representation of Early Ovarian Development in Mice, *Journal of Ovarian Research*, vol. **9**, no. 1, accessed October 25, 2023, from </pmc/articles/PMC4915180/>, June 21, 2016. DOI: 10.1186/S13048-016-0246-7
- Wei, R. R., Al-Bassam, J. and Harrison, S. C., The Ndc80/HEC1 Complex Is a Contact Point for Kinetochores-Microtubule Attachment, *Nature Structural & Molecular Biology*, vol. **14**, no. 1, pp. 54–59, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17195848/>, January 2007. DOI: 10.1038/NSMB1186
- Welburn, J. P. I., Vleugel, M., Liu, D., Yates, J. R., Lampson, M. A., Fukagawa, T. and Cheeseman, I. M., Aurora B Phosphorylates Spatially Distinct Targets to Differentially Regulate the Kinetochores-Microtubule Interface, *Molecular Cell*, vol. **38**, no. 3, p. 383, accessed October 6, 2023, from </pmc/articles/PMC2873218/>, May 5, 2010. DOI: 10.1016/J.MOLCEL.2010.02.034
- Wilson-Kubalek, E. M., Cheeseman, I. M., Yoshioka, C., Desai, A. and Milligan, R. A., Orientation and Structure of the Ndc80 Complex on the Microtubule Lattice, *The Journal of Cell Biology*, vol. **182**, no. 6, p. 1055, accessed October 5, 2023, from </pmc/articles/PMC2542468/>, September 9, 2008. DOI: 10.1083/JCB.200804170
- Wimbish, R. T. and DeLuca, J. G., Hec1/Ndc80 Tail Domain Function at the Kinetochores-Microtubule Interface, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. **8**, accessed October 5, 2023a, from </pmc/articles/PMC7054225/>, February 26, 2020. DOI: 10.3389/FCELL.2020.00043
- Wimbish, R. T. and DeLuca, J. G., Hec1/Ndc80 Tail Domain Function at the Kinetochores-Microtubule Interface, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. **8**, accessed October 4, 2023b, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32161753/>, February 26, 2020. DOI: 10.3389/FCELL.2020.00043
- Wollman, R., Cytrynbaum, E. N., Jones, J. T., Meyer, T., Scholey, J. M. and Mogilner, A., Efficient Chromosome Capture Requires a Bias in the “search-and-capture” Process during Mitotic-Spindle Assembly, *Current Biology : CB*, vol. **15**, no. 9, pp. 828–32, accessed September 28, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15886100/>, May 10, 2005. DOI: 10.1016/J.CUB.2005.03.019
- Xu, Z., Cetin, B., Anger, M., Cho, U. S., Helmhart, W., Nasmyth, K. and Xu, W., Structure and Function of the PP2A-Shugoshin Interaction, *Molecular Cell*, vol. **35**, no. 4, pp. 426–41, accessed October 24, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19716788/>, August 28, 2009. DOI: 10.1016/J.MOLCEL.2009.06.031
- Yakoubi, W. El, Buffin, E., Cladière, D., Gryaznova, Y., Berenguer, I., Touati, S. A., Gómez, R., Suja, J. A., Deursen, J. M. Van and Wassmann, K., Mps1 Kinase-Dependent Sgo2 Centromere Localisation Mediates Cohesin Protection in Mouse Oocyte Meiosis I, *Nature Communications*, vol. **8**, no. 1, accessed October 25, 2023, from

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28947820/>, December 1, 2017. DOI: 10.1038/S41467-017-00774-3
- Yam, C. Q. X., Lim, H. H. and Surana, U., DNA Damage Checkpoint Execution and the Rules of Its Disengagement, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. **10**, accessed October 1, 2023, from </pmc/articles/PMC9582513/>, October 6, 2022. DOI: 10.3389/FCELL.2022.1020643
- Yamagishi, Y., Honda, T., Tanno, Y. and Watanabe, Y., Two Histone Marks Establish the Inner Centromere and Chromosome Bi-Orientation, *Science (New York, N.Y.)*, vol. **330**, no. 6001, pp. 239–43, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20929775/>, October 8, 2010. DOI: 10.1126/SCIENCE.1194498
- Yamagishi, Y., Yang, C. H., Tanno, Y. and Watanabe, Y., MPS1/Mph1 Phosphorylates the Kinetochore Protein KNL1/Spc7 to Recruit SAC Components, *Nature Cell Biology*, vol. **14**, no. 7, pp. 746–52, accessed October 8, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22660415/>, July 2012. DOI: 10.1038/NCB2515
- Yang, K. T., Li, S. K., Chang, C. C., Tang, C. J. C., Lin, Y. N., Lee, S. C. and Tang, T. K., Aurora-C Kinase Deficiency Causes Cytokinesis Failure in Meiosis I and Production of Large Polyploid Oocytes in Mice, *Molecular Biology of the Cell*, vol. **21**, no. 14, pp. 2371–83, accessed October 13, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20484572/>, July 15, 2010. DOI: 10.1091/MBC.E10-02-0170
- Yang, Z., Tulu, U. S., Wadsworth, P. and Rieder, C. L., Kinetochore Dynein Is Required for Chromosome Motion and Congression Independent of the Spindle Checkpoint, *Current Biology : CB*, vol. **17**, no. 11, pp. 973–80, accessed October 20, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17509882/>, June 5, 2007. DOI: 10.1016/J.CUB.2007.04.056
- Ye, A. A., Deretic, J., Hoel, C. M., Hinman, A. W., Cimini, D., Welburn, J. P. and Maresca, T. J., Aurora A Kinase Contributes to a Pole-Based Error Correction, *Current Biology : CB*, vol. **25**, no. 14, p. 1842, accessed October 27, 2023, from </pmc/articles/PMC4509859/>, July 7, 2015. DOI: 10.1016/J.CUB.2015.06.021
- Yoshida, S., Kaido, M. and Kitajima, T. S., Inherent Instability of Correct Kinetochore-Microtubule Attachments during Meiosis I in Oocytes, *Developmental Cell*, vol. **33**, no. 5, pp. 589–602, accessed October 6, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26028219/>, June 8, 2015. DOI: 10.1016/J.DEVCEL.2015.04.020
- Yu, J., Raia, P., Ghent, C. M., Raisch, T., Sadian, Y., Cavadini, S., Sabale, P. M., et al., Structural Basis of Human Separase Regulation by Securin and CDK1–Cyclin B1, *Nature 2021 596:7870*, vol. **596**, no. 7870, pp. 138–42, accessed October 8, 2023, from <https://www.nature.com/articles/s41586-021-03764-0>, July 21, 2021. DOI: 10.1038/s41586-021-03764-0
- Yun, Y., Holt, J. E., Lane, S. I. R., McLaughlin, E. A., Merriman, J. A. and Jones, K. T., Reduced Ability to Recover from Spindle Disruption and Loss of Kinetochore Spindle Assembly Checkpoint Proteins in Oocytes from Aged Mice, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, vol. **13**, no. 12, pp. 1938–47, accessed October 21, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24758999/>, June 15, 2014. DOI: 10.4161/CC.28897
- Zhang, Q. H., Qi, S. T., Wang, Z. B., Yang, C. R., Wei, Y., Chen, L., Ouyang, Y. C., Hou, Y., Schatten, H. and Sun, Q. Y., Localization and Function of the Ska Complex during Mouse Oocyte Meiotic Maturation, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, vol. **11**, no. 5, pp. 909–16,

accessed October 27, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22336914/>, March 1, 2012. DOI: 10.4161/CC.11.5.19384

Zheng, W., Zhang, T., Zhao, T., Zhu, Z., Qin, S., Yan, H., He, M., et al., CAMP Controls the Balance between Dormancy and Activation of Primordial Follicles in Mouse Ovaries, *PNAS Nexus*, vol. **2**, pp. 1–13, accessed July 6, 2023, from <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgad055>, 2023. DOI: 10.1093/pnasnexus/pgad055

Résumé

Les gamètes sont formés par deux divisions successives (méiose I et II). Les chromosomes homologues se séparent lors de la méiose I et les chromatides sœurs en méiose II, générant ainsi des gamètes haploïdes. Les erreurs de ségrégation sont particulièrement fréquentes dans les ovocytes de mammifères et entraînent des fausses couches ou des trisomies. L'attachement bipolaire des chromosomes au fuseau méiotique est une condition préalable à leur ségrégation correcte lors des deux divisions méiotiques.

En mitose et en méiose I, le CPC (Chromosomal Passenger Complex) déstabilise sélectivement les attachements microtubules-kinétochores incorrects qui sont caractérisés par une tension faible au niveau du kinétochore. En parallèle, le SAC (Spindle Assembly Checkpoint) détecte les kinétochores non attachés et bloque la ségrégation des chromosomes jusqu'à ce que les attachements corrects soient établis. Ainsi, après une série d'attachement/détachement des microtubules, le mécanisme de correction permet l'établissement d'un attachement correct conduisant à l'inactivation du SAC et le passage en anaphase.

Après la méiose I, les ovocytes de mammifères s'arrêtent en métaphase II et attendent la fécondation par le spermatozoïde. Mon projet de thèse visait à déterminer si le CPC est fonctionnel en méiose II dans les ovocytes de souris. Pour cela, mon approche expérimentale a consisté à mimer des attachements incorrects en réduisant chimiquement la tension au niveau du kinétochore, puis à observer la ségrégation des chromosomes par vidéo-microscopie en temps réel.

Mes résultats ont montré que lorsque la tension est réduite en métaphase II précoce, l'anaphase II est fortement retardée. De plus, après inhibition du CPC ou du SAC, les ovocytes sont capables de rentrer en anaphase II malgré la tension réduite au kinétochore. Donc, le retard de l'anaphase II est dû à l'activité du CPC et du SAC. Ainsi, en métaphase II précoce, le CPC est bien fonctionnel et est capable de détecter les erreurs d'attachement.

Cependant, lorsque la tension est réduite en métaphase II tardive, les ovocytes entrent en anaphase II sans retard comparé à des ovocytes contrôles. Ainsi, une tension faible en métaphase II tardive n'est pas détectée efficacement et n'induit pas l'activation du CPC et du SAC. Ceci est dû au fait que le niveau de la phosphatase PP2A au niveau des centromères augmente en métaphase II tardive et contrecarre l'activité du CPC. Ainsi seuls les ovocytes en métaphase II précoce et non tardive peuvent répondre à une faible tension et induire la correction des erreurs d'attachement.

Ainsi, Bien que les ovocytes soient arrêtés et qu'ils aient du temps pour corriger les erreurs d'attachement, le CPC s'affaiblit au cours du temps et laisse un certain nombre d'erreurs non corrigées. Finalement, ces résultats contribuent à notre compréhension de l'origine des aneuploïdies liées à la méiose II dans les ovocytes de mammifères.