



**HAL**  
open science

# Étude des relations entre la prolifération et la différenciation cellulaire au cours de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans*

Joris Dieng

► **To cite this version:**

Joris Dieng. Étude des relations entre la prolifération et la différenciation cellulaire au cours de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans*. Biologie du développement. Université de Rennes, 2024. Français. NNT : 2024URENB014 . tel-04769428

**HAL Id: tel-04769428**

**<https://theses.hal.science/tel-04769428v1>**

Submitted on 6 Nov 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

L'UNIVERSITE DE RENNES

ECOLE DOCTORALE N° 637

*Sciences de la Vie et de la Santé*

Spécialité : (*Biologie Cellulaire, Biologie du Développement*)

Par

**Joris Dieng**

**Étude des relations entre la prolifération et la différenciation cellulaire au cours de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans***

Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 28 mai 2024

Unité de recherche : Institut de Génétique et Développement de Rennes

## Rapporteurs avant soutenance :

Sophie Bel-Vialar

CR CNRS – Centre de Biologie Intégrative

Sophie Jarriault

DR CNRS – Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et cellulaire

## Composition du Jury :

Président : Roland Le Borgne

DR CNRS – Institut de Génétique et Développement de Rennes

Examineurs : Sophie Bel-Vialar

CR CNRS – Centre de Biologie Intégrative

Alexandre Benedetto

Senior Lecturer – Lancaster University

Sophie Jarriault

DR CNRS – Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Lionel Pintard

DR CNRS – Institut Jacques Monod

Dir. de thèse : Anne Pacquelet

CR INSERM – Institut de Génétique et Développement de Rennes

## Remerciements

Je tiens à remercier les membres de mon jury de thèse d'avoir accepté d'évaluer mon travail. Merci à Sophie Bel-Vialar et Sophie Jarriault d'avoir accepté le rôle de rapporteuse au sein de mon jury. Merci à Alexandre Benedetto et Lionel Pintard d'avoir accepté d'être examinateurs de mon travail de thèse. Merci à Roland Le Borgne d'avoir accepté la présidence de mon jury de thèse.

Je tiens également à remercier les membres de mon Comité de Suivi individuel, pour leurs conseils, leur accompagnement et leur soutien au cours de mes 3 ans et demi de thèse. Je remercie donc sincèrement Fabienne Pituello, Lionel Pintard et Laetitia Bataille qui m'ont conforté dans mon travail lorsque j'ai pu douter.

Je remercie également Grégoire pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant, par deux fois, de prolonger mon contrat doctoral, ce qui m'a permis de finaliser mes travaux dans les meilleures conditions.

Merci à Anne Pacquelet pour ton investissement, ta rigueur scientifique et ton encadrement qui m'a permis de ne pas me disperser et de rester concentré sur mes objectifs. Merci surtout pour ta gentillesse.

Merci à tous les membres de l'équipe Michaux, l'entente entre nous et la bonne humeur qui règne dans notre équipe ont créé un cadre de travail idéal pour faciliter ces 3 années et demie de doctorat. Merci à Anne Bourdais et son compagnon Aurélien pour m'avoir fait goûter au plaisir des coquilles Saint-Jacques. Merci à Ophélie pour ta gentillesse et l'attention que tu portes au bien-être de tous et surtout merci pour les kilos de chocolats. Merci à Aurélien pour ta bonne humeur, la bonne ambiance que tu véhicules et les verres partagés. Merci à Céline, pour sa sympathie, toujours prête à me conter les péripéties de la vie d'enseignement et de médecin. Merci à Flora, Maela et Guillaume, pour m'avoir aidé à remplir mon quota de discussions, Scientifique, Politique et Métaphysique journalière, ces quelques lignes ne rendent malheureusement pas justice à toutes nos conversations, mais vous m'excusez, je suis plus à l'aise à l'oral qu'à l'écrit. Merci à Maela d'avoir organisé les sorties aux bars et Merci et à Alexandre, le dernier arrivé dans l'équipe, qui participe déjà à nos discussions animées.

Merci également à Marta, Nina, Stéphane, Manu, Chantal et toutes les autres personnalités de l'IGDR qui ont fait de mes années de doctorat de belles années. Merci à Stéphanie, Xavier et Gilles qui m'ont aidé lors de mes nombreuses heures de microscopie.

Merci à mes proches qui m'ont soutenu dans ma vie et pendant toutes mes études. Merci à mes frères de cœur, Alexis, Sako et Loic, avec qui j'ai partagé toutes mes galères. Merci à JM, ont a traversé les années difficiles du lycée ensemble et tu es toujours un frère pour moi aujourd'hui. Merci et félicitations à mon frère Nael et à Sandy pour la naissance de ma première nièce. Merci à mon père, qui a toujours fait preuve de courage et d'abnégation dans son travail, des qualités que j'espère partager avec lui. Enfin, merci à ma Mère, pour sa volonté sans faille et pour avoir toujours veillé au grain sur ma scolarité, malgré la difficulté de son travail, je n'en serais certainement pas là sans elle.

## Liste des abréviations

(a/p)	(antéro/postérieur)
(r/l)	(right/left)
ACT	Actine
ADN	Acide DésoxyRibonucléique
APC/C	<i>"Anaphase Promoting Complex/cyclosom"</i>
ARN	Acide Ribonucléique
ARNi	Acide Ribonucléique Interférent
ARNm	Acide Ribonucléique Messager
ATM	<i>"Ataxia-Telangiectasia-Mutated"</i>
ATP	Adénosine Triphosphate
ATR	<i>"Ataxia Telangiectasia and Rad3-related protein3"</i>
AURKA	<i>"Aurora kinase A"</i>
BAF	<i>"BRM/BRG1-Associated Factors "</i>
BORA	<i>"Protein Aurora Borealis"</i>
BRM/BRG	Brahma/« <i>BRM-Related Gene</i> »
CAK	<i>"CDK Activating Kinase"</i>
CCN/CY	Cycline
CDC	<i>"Cell division control protein"</i>
CDK/CDKN	<i>"Cyclin-dependent kinase"</i>
CDT	<i>"Chromatin licensing and DNA replication factor "</i>
CEH-37	<i>"C. Elegans Homeobox"</i>
CHK	<i>"Checkpoint kinase"</i>
CIP/KIP	<i>"CDK interacting protein/Kinase inhibitory protein"</i>
CKI	<i>"Cyclin-dependent kinase inhibitor protein"</i>
CUL	Culline
DREAM/MuvB	<i>"Dimerization partner, RB-like, E2F and multi-vulval class B complex/multi-vulval class B complex"</i>
E	Endoderme
EGF	<i>"Epidermal growth factor"</i>
EGFR	<i>"Epidermal growth factor Receptor"</i>
EKLF	<i>"Erythroid Krüppel-like factor"</i>
ELT	<i>"Erythroid/ Erythrocyte- L ike T ranscription factor"</i>
EMS	Endomésoderme
END	<i>"ENDoderm determining"</i>
EPS	<i>"Epidermal Growth Factor Receptor Pathway Substrate"</i>
ERK	<i>"Extracellular signal-regulated kinases"</i>
ERM	Ezrine/Radixine/Moesine
F-actine	Actine Fibrillaire
FLN	Filamine
FOXA1	<i>"ForkHead box A1"</i>
FZR/Cdh	<i>"Fizzy-related protein"</i>
G	<i>"Growth/Gap"</i>
GATA	Facteurs de transcription caractérisés par leur capacité à se lier à la séquence d'ADN "GATA"
GES	<i>"Abnormal Gut Esterase"</i>
GMC	<i>"Glial mother cell"</i>
Gof	<i>"Gain of function"</i>
H	Histone
HAM-3	<i>"HSN Abnormal Migration"</i>
HMR	<i>"HaMmeRhead embryonic lethal"</i>
HOX	<i>"Homeobox genes"</i>
HUM	<i>"Heavy chain, Unconventional Myosin"</i>
IF	<i>"Intermediate filaments"</i>

IL6	"Interleukin 6"
IL6ST/Gp130	"Interleukin 6 Cytokine Family Signal Transducer/Glycoprotein 130"
INK4	"Inhibitor of CDK4"
JNK	"c-Jun N-terminal kinases"
K	Lysine
L	"Larval stage"
LET	"LEThal"
LIMK	"LIM domain kinase"
M	Mitose
MAPK	"Mitogen-activated protein kinase"
MCM	"Minichromosome maintenance protein complex"
me	Méthylation
MED	" <u>ME</u> sen <u>D</u> oderm"
MEF	"Myocyte enhancer factor"
MEK	"MAPK/extracellular signal-regulated kinase"
MKK	"Mitogen-activated protein kinase kinases"
MLC	"Myosin Light Chain"
MOM/WNT	"More Of MS/Wingless and Int"
MS	Mésoderme
MyoD/HLH	"Myoblast determination protein/Helix Loop Helix"
NB6-4	"Neuroblast 6-4"
NOB	"NO Backside"
NURD	"Nucleosome Remodeling and Deacetylase"
p	Phosphate
P2	"Posterior cell 2"
PAR	"PARtitioning-defective"
PB1	"Phox and Bem1"
PBAF	"Polybromo-associated BAF"
PcG	"Polycomb"
PEPT	"PEPTide transporter family"
PHP	"Posterior Hox gene Paralog"
PKC/aPKC	"Protein kinase C/Atypical protein kinase C"
PLK	"POLO kinase"
PLST	Plastine
POP/TCF	"POsterior Pharynx defect/T cell factor"
RAS	"Rat sarcoma virus"
RB/pRB	"Retinoblastoma protein"
ROCK	"Rho-associated protein kinase"
S	Synthèse
SAC	"Spindle assembly checkpoint"
SCF	SKP1-Cul-F-box
SKN	"SKiNhead"
SKP	"S-phase kinase-associated protein"
Src	" <u>S</u> a <u>R</u> Coma "
SWI/SNF	"SWItch/Sucrose Non-Fermentable"
TGF	"Transforming Growth Factor"
Thr	Thréonine
βTrCP	"Beta-transducin repeat containing protein"
TrxG	Trithorax
Tyr	Tyrosine
WRM-1	" <u>W</u> orm a <u>R</u> M adillo"

## Table des Figures

<b>Figure 1</b> Évolution des couples Cycline-CDK au cours du cycle cellulaire .....	8
<b>Figure 2</b> Régulation des complexes CDK-CCN .....	11
<b>Figure 3</b> Régulation de la voie CDK-RB-E2F .....	15
<b>Figure 4</b> Modèle de régulation de la phase G1 .....	18
<b>Figure 5</b> Régulation de la phase G2 .....	21
<b>Figure 6</b> Entrée et sortie de la phase G0 .....	24
<b>Figure 7</b> La métaphore du "paysage épigénétique" de Conrad H. Waddington .....	27
<b>Figure 8</b> Lignage cellulaire chez <i>Cænorhabditis elegans</i> .....	45
<b>Figure 9</b> Structure post-embryonnaire de l'intestine de <i>C. elegans</i> .....	47
<b>Figure 10</b> Polarité apico-basale des entérocytes et microvillosités .....	49
<b>Figure 11</b> Représentation schématique des divisions intestinales chez <i>C. elegans</i> .....	53
<b>Figure 12</b> Stades d'élongation de l'embryon .....	53
<b>Figure 13</b> Représentation schématique de l'émergence des lignées endodermique et mésodermique .....	56
<b>Figure 14</b> Représentation du processus de polarisation des entérocytes à l'échelle du tissu .....	59
<b>Figure 15</b> Représentation schématique de l'organogenèse intestinale chez <i>C. elegans</i> et des différents événements liés au cycle cellulaire, à la différenciation et à l'élongation, survenant au cours de cette organogenèse .....	61

## Table des matières

Introduction.....	2
I. Le cycle cellulaire .....	6
A. Définitions et généralités.....	6
B. La régulation du cycle cellulaire .....	7
1. Les principaux acteurs de la régulation du cycle cellulaire.....	7
2. Régulation de la phase G1 .....	12
3. Régulation de la phase S .....	19
4. Régulation de la phase G2 et de la transition G2/M.....	20
5. Régulation de la mitose .....	22
6. La sortie du cycle cellulaire : la phase G0.....	23
C. Activation du génome et introduction des interphases G2 et G0/G1 .....	25
II. La différenciation cellulaire .....	26
A. Définition et principes généraux .....	26
1. Notion de potentiel de différenciation .....	26
2. Le concept de destin cellulaire .....	28
3. Notion de « <i>commitment</i> » ou d'engagement .....	29
4. Les modes de spécifications .....	29
B. Le processus de différenciation .....	31
III. Relations entre le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire.....	33
A. De nombreux mécanismes expliquent l'antagonisme entre prolifération et différenciation cellulaire .....	33
1. Inhibition des facteurs de différenciation par les CDK .....	33
2. Promotion de la différenciation cellulaire par les CKI.....	35
3. Inhibition du cycle cellulaire par les facteurs de différenciation.....	36
4. Rôle du remodelage de la chromatine induit par la différenciation dans la régulation du cycle cellulaire .....	37
5. Rôle de la kinase DYRK1 dans la coordination entre prolifération et différenciation.....	40
B. Des relations plus complexes qu'un simple antagonisme .....	41
1. Un antagonisme dépendant du contexte .....	41
2. Importance du découplage dans le maintien de l'homéostasie épithéliale .....	42
3. Promotion de la différenciation cellulaire par les cyclines.....	43
4. Rôle de la longueur des phases du cycle cellulaire dans le processus de différenciation.....	43
IV. L'organogenèse intestinale chez <i>C. elegans</i> .....	45
A. <i>C. elegans</i> en tant que modèle .....	46
B. Morphogenèse intestinale chez <i>C. elegans</i> .....	47

1.	Aperçu général de l'intestin chez <i>C. elegans</i> .....	47
2.	La polarité des entérocytes .....	48
3.	Structure des microvillosités intestinales .....	50
4.	Description des divisions intestinales.....	51
5.	Développement de l'intestin et élongation embryonnaire.....	54
C.	La différenciation intestinale.....	54
1.	Émergence des lignées endodermique et mésodermique .....	54
2.	La spécification endodermique.....	57
3.	La différenciation intestinale.....	57
4.	La polarisation des entérocytes .....	58
5.	Formation de la bordure en brosse .....	60
D.	Le cycle cellulaire au cours de l'organogenèse intestinale chez <i>C. elegans</i> .....	60
1.	Régulation de la phase G2.....	62
2.	Régulation de la phase G1.....	62
E.	Influence de la spécification endodermique sur la prolifération intestinale .....	63
1.	Influence de la spécification endodermique sur le nombre de descendants de E.....	63
2.	Influence de la spécification endodermique sur la vitesse du cycle dans le lignage E.....	63
V.	Objectifs de la thèse .....	64
VI.	L'accélération du cycle cellulaire induite par <i>cdc-25.1(gof)</i> n'accélère ni la prolifération ni la formation de la bordure en brosse .....	69
A.	L'accélération du cycle cellulaire induite par <i>cdc-25.1(gof)</i> n'accélère pas la polarisation.....	70
B.	L'accélération du cycle cellulaire induite par <i>cdc-25.1(gof)</i> n'accélère pas la formation de la bordure en brosse .....	71
C.	L'accélération du cycle cellulaire induite par <i>cdc-25.1(gof)</i> semble modifier l'accumulation d'ERM-1 au stade 2-fold.....	71
VII.	La dégradation de CKI-1 retarde partiellement la formation de la bordure en brosse .....	72
A.	La dégradation de CKI-1 retarde le recrutement d'EPS-8 à la membrane apicale.....	72
B.	La dégradation de CKI-1 pourrait impacter différemment les constituants de la bordure en brosse en fonction de leur temporalité de recrutement.....	73
C.	Le mécanisme à l'origine du retard de recrutement d'EPS-8 reste à éclaircir .....	74
D.	La différence de comportement de ERM-1 et EPS-8 souligne la variabilité des relations entre cycle cellulaire et différenciation .....	75
VIII.	Les facteurs ELT-2 et ELT-7 régulent l'arrêt du cycle cellulaire dans les anneaux postérieurs au cours de la transition E16/E20.....	76
A.	L'accumulation de CKI-1 dans les anneaux postérieurs au cours de la transition E16/E20 est régulée par ELT-2 et ELT-7.....	77
B.	Hypothèse d'une régulation de CKI-1 par ELT-2/7 via la voie des facteurs de transcription GATA.....	78
C.	Hypothèse d'une régulation indirecte de CKI-1 par ELT-2/7.....	80



D.	Aspect temporel de la régulation du cycle cellulaire par ELT-2/7 .....	80
E.	Aspect spatial de la régulation du cycle cellulaire par ELT-2/7.....	82
IX.	Conclusion générale .....	84
X.	Bibliographies: .....	85

## Introduction

L'organogenèse est un processus hautement régulé qui exige la synchronisation de divers programmes cellulaires. Parmi ces programmes, la prolifération cellulaire et la différenciation jouent des rôles cruciaux dans la mise en place des tissus et des organes. La prolifération cellulaire est fondamentale pour la croissance et le maintien de l'intégrité des tissus et des organes, mais elle doit être rigoureusement régulée pour éviter une prolifération incontrôlée susceptible de conduire à une hyperplasie tissulaire et à une altération fonctionnelle. D'autre part, la différenciation cellulaire génère une diversité de types cellulaires essentiels au fonctionnement des tissus et des organes. La perturbation de ce programme de différenciation peut entraîner la perte de types cellulaires spécifiques, leur surabondance, voire le maintien de caractéristiques indifférenciées. En outre, les cellules différenciées présentent généralement une capacité de prolifération limitée par rapport aux cellules souches ou aux précurseurs cellulaires, suggérant une possible régulation commune, avec ou sans interdépendance, entre ces deux programmes cellulaires majeurs.

# I. Le cycle cellulaire

## A. Définitions et généralités

La cellule est la plus petite unité structurale et fonctionnelle considérée comme vivante et le cycle cellulaire est quant à lui le processus de reproduction universel par lequel la cellule se multiplie. Les deux événements les plus importants constituant le cycle cellulaire sont la copie et la séparation des chromosomes de la cellule. Ces événements prennent respectivement place au cours de la phase de synthèse de l'ADN, ou phase S, et au cours de la mitose, ou phase M. La succession de phases M et S constitue le cycle cellulaire minimal ou cycle de segmentation. On retrouve ce cycle minimal au cours des premières divisions de la cellule œuf lors du développement embryonnaire (Tadros and Lipshitz 2009; Farrell and O'Farrell 2014). La segmentation permet la multiplication rapide du nombre de cellules, mais présente le désavantage de ne pas maintenir le volume cellulaire qui se voit réduit à chaque division. L'introduction de deux phases appelées G pour « Gap phase » ou « Growth phase » (**Fig. 1**), permet d'augmenter le volume de la cellule mère avant la division, permettant ainsi de limiter la réduction du volume cellulaire lors de la mitose. La première phase G, appelée G1, intervient entre la mitose et la phase S. Elle permet la synthèse des ARNm et des protéines nécessaires à la phase S ainsi qu'à la croissance cellulaire (Bähler 2005; Cadart et al. 2018; 2022). La seconde phase G prend place après la phase S et avant la mitose, il s'agit de la phase G2. Au cours de la phase G2, on assiste à la maturation des centrosomes, à la synthèse des protéines nécessaires à la mitose ainsi qu'à une rapide croissance cellulaire (Bähler 2005; Mir et al. 2011; Cadart et al. 2018; 2022).

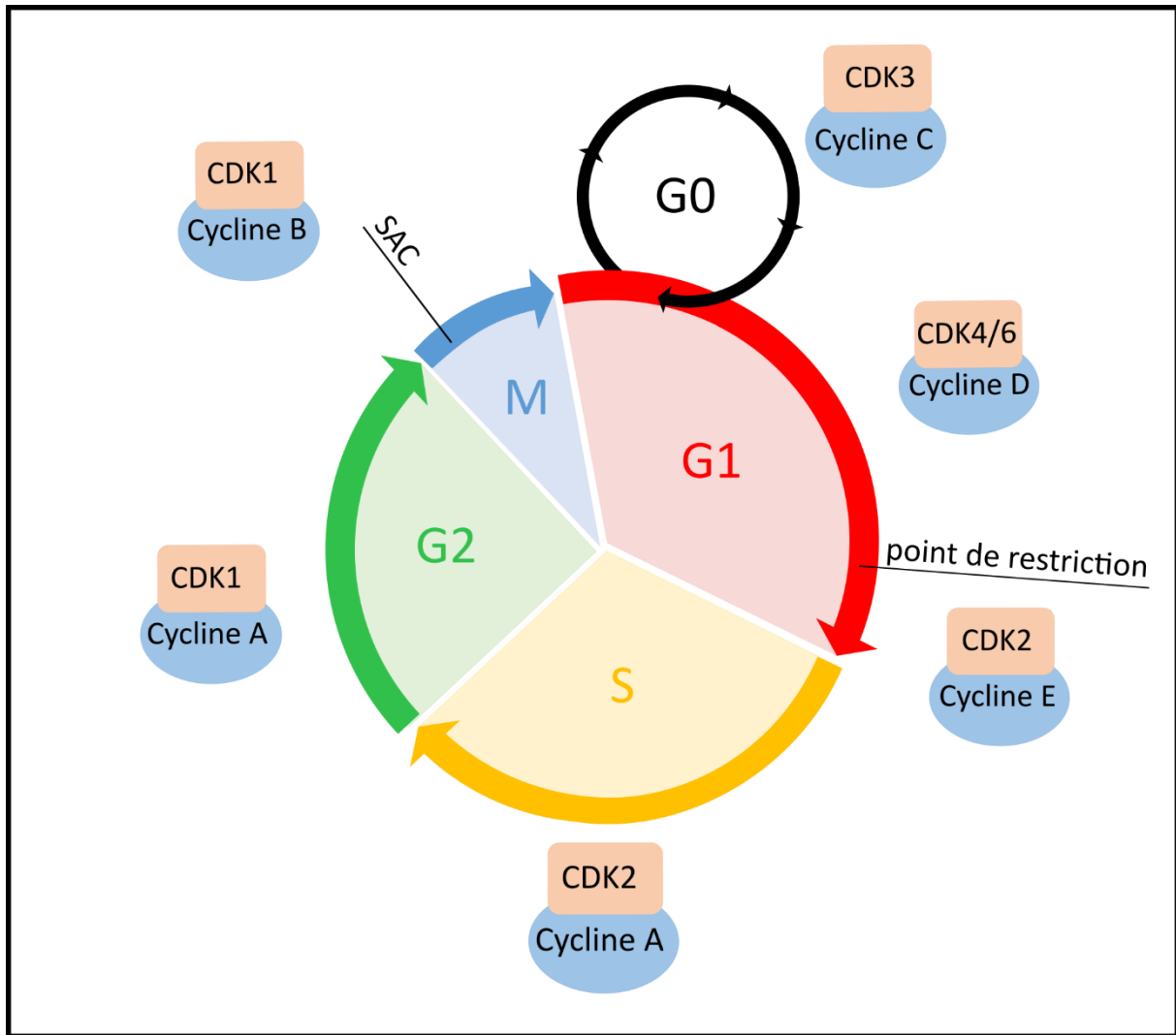
## B. La régulation du cycle cellulaire

### 1. Les principaux acteurs de la régulation du cycle cellulaire

Afin d'assurer la clarté de mes explications, je me placerai dans un cadre englobant les effecteurs et les mécanismes conservés chez tous les eucaryotes, en laissant de côté d'éventuelles spécificités propres à un ou des organismes et en me basant sur les nomenclatures en vigueur chez l'Homme. Dans un premier temps, je présenterai brièvement les principaux acteurs moléculaires impliqués dans la régulation du cycle. Une fois les acteurs clairement établis, je détaillerai dans un second temps les mécanismes de régulation contrôlant la progression des différentes phases du cycle cellulaire ainsi que le rôle de chacun des acteurs dans ce contexte.

#### a) *Couples Cycline-CDK : régulateurs majeurs du cycle cellulaire*

La progression à travers les différentes phases du cycle cellulaire repose principalement sur des couples de protéines constitués par une cycline (CCN) et par une kinase dépendante des cyclines, la « cycline dependent kinase » ou CDK. Chaque étape du cycle possède un ou des couples CDK-CCN qui lui sont spécifiques (**Fig. 1**). Les CDK, grâce à leur activité kinase, constituent la sous-unité catalytique du complexe. Les CCN n'ont pas d'activité enzymatique mais sont nécessaires à l'activation des CDK, permettant ainsi aux complexes CDK-CCN de phosphoryler leurs différents substrats. Les différents types de CCN peuvent également posséder des paralogues présentant des fonctions redondantes et/ou distinctes (Caldon and Musgrove 2010). L'expression des CDK étant relativement constante au cours du cycle, c'est la variation de la quantité des CCN, dépendant de leur transcription et de leur dégradation, qui caractérise et constitue le principal facteur limitant à chaque étape du cycle. En tant que principaux acteurs de la progression du cycle, les couples CDK-CCN sont les cibles centrales des régulateurs secondaires du cycle, aussi bien d'inhibiteurs que d'activateurs visant à bloquer, ralentir ou potentialiser leur activité kinase.



**Figure 1** *Évolution des couples Cycline-CDK au cours du cycle cellulaire :*

Deux couples de CDK-CCN agissent dans la progression de la phase G1 et la transition G1/S : CDK4/6-CCND qui permet le franchissement du point de restriction et CDK2-CCNE qui permet la transition G1/S. Le couple CDK2-CCNA est présent en début de phase S et favorise l'initiation de la réplication. CDK1-CCNA est présent en début de phase G2, il permet l'inhibition de la re-réplication et phosphoryle Bora pour faire progresser la phase G2. Le couple CCNB-CDK1 est présent en fin de phase G2 et au début de la phase M, il permet le franchissement du SAC "Spindle assembly checkpoint". Le couple CDK3-CCNE est spécifique de la phase G0 et permet la reprise du cycle des cellules quiescentes.

### *b) Phosphorylation et déphosphorylation des CDK par la kinase WEE1 et la phosphatase CDC25*

En plus de l'interaction avec leur CCN respective, l'activité des CDK est régulée par leur état de phosphorylation. Celui-ci dépend notamment de l'activité de la kinase WEE1 et de la phosphatase CDC25 (**Fig. 2**). La kinase WEE1 dépose une phosphorylation inhibitrice sur la thréonine 14 (Thr14) et la tyrosine 15 (Tyr15) (Parker and Piwnica-Worms 1992; Morgan 1995) tandis que les phosphatases de la famille CDC25 permettent le retrait de la phosphorylation inhibitrice et ainsi l'activation de l'activité kinase des CDK (Kumagai and Dunphy 1991; Dunphy and Kumagai 1991). Il existe trois gènes paralogues chez l'Homme : *CDC25A*, *CDC25B* et *CDC25C*, le produit de ce dernier jouant un rôle décisif au cours de la transition G2/M (K. Liu, Zheng, et al. 2020; K. Liu, Lu, et al. 2020). L'équilibre entre l'activité de WEE1 et celle de CDC25 est au cœur de la régulation de la phase G2 et constitue également l'un des nombreux mécanismes de régulation en phase G1 (Crncec and Hochegger 2019).

### *c) Activation des CDK par la protéine CAK*

Par ailleurs, certaines CDK, à savoir CDK1, CDK2, CDK4 et CDK6, nécessitent un troisième niveau d'activation en plus de la déphosphorylation dépendante de CDC25. Il s'agit d'une phosphorylation activatrice qui potentialise leur activité kinase (**Fig. 2**). C'est le complexe CAK « CDK activating kinase », constitué de trois protéines, la cycline H (CCNH), la protéine MNAT1 ou « Ménage à trois » et la kinase CDK7, qui se charge de phosphoryler les CDK sur des résidus thréonine spécifiques, Thr161 et Thr160 respectivement pour CDK1 et CDK2. (Labbé et al. 1994; Devault et al. 1995)

### *d) Les inhibiteurs de CDK*

Il existe deux familles de « *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor* » ou CKI, capables d'inhiber l'activité des CDK. La première famille de CKI est la famille des protéines CIP/KIP, constituée des protéines CDKN1A (p21<sup>cip</sup>), CDKN1B (p27<sup>kip1</sup>) et CDKN1C (p57<sup>kip2</sup>) qui sont capables de réguler toutes les CDK au cours du cycle cellulaire (**Fig. 2**) ; on les retrouve donc aussi bien en

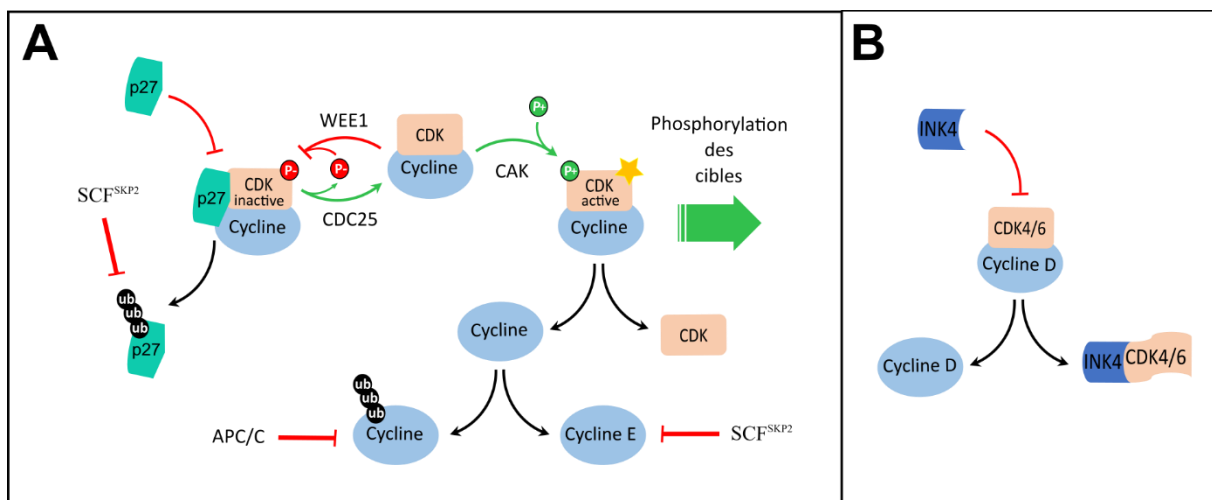
phase G1 qu'en phase G2. La protéine p21<sup>kip</sup> agit en aval de la voie de p53 et participe à l'arrêt du cycle en réponse à des dommages à l'ADN (Wade Harper et al. 1993; Ando et al. 2001) tandis que p27<sup>kip1</sup> joue un rôle majeur dans la régulation du complexe cycline-CDK en phase G1 et est essentielle à la sortie du cycle cellulaire précédant l'entrée des cellules en quiescence (G0) (Toyoshima and Hunter 1994). La protéine p57<sup>kip2</sup> est moins étudiée que les deux autres membres de la famille CIP/KIP et semble présenter diverses fonctions contextuelles, notamment au cours du développement embryonnaire (Pateras et al. 2009). La seconde famille de CKI est la famille des inhibiteurs de CDK4 aussi nommée INK4 (**Fig. 2**). Elle est spécifique à la phase G1 et est uniquement capable d'inhiber CDK4/6 (Ortega, Malumbres, and Barbacid 2002).

#### *e) Rôle du protéasome 26S et des ubiquitine-ligases E3*

Enfin, la régulation du cycle cellulaire nécessite également la dégradation contrôlée de certains acteurs du cycle, notamment les CCN. Ce processus de dégradation se fait grâce au protéasome 26S, un complexe protéique permettant la dégradation de protéines par protéolyse. Afin qu'une protéine soit prise en charge par le protéasome et détruite, cette dernière doit lui être adressée via une « étiquette » formée par une chaîne d'ubiquitine. L'ubiquitinylation des protéines à adresser au protéasome est réalisée par les complexes de type ubiquitine-ligase E3. Plusieurs de ces complexes jouent un rôle régulateur majeur au cours du cycle cellulaire. En effet, via la dégradation des CCN, de répresseurs du cycle tels que les CKI ou d'activateurs comme CDC25, la voie du protéasome 26S favorise le franchissement de certaines étapes clés du cycle cellulaire.

Il existe deux principaux complexes ubiquitine-ligase E3 impliqués dans la régulation du cycle cellulaire. Le premier, le SCF, est composé de la protéine SKP1, de la cullin1 (CUL1), et d'une protéine F-box spécifique pour chaque cible. Le SCF associé à la F-Box SKP2 ou SCF<sup>SKP2</sup> permet notamment la dégradation de la CKI de la famille CIP/KIP, p27<sup>kip1</sup>, favorisant

la transition G1/S, mais également la dégradation de CCNE au cours des phases S et G2 (**Fig. 2** ; (Vodermaier 2004)). Le SCF associé à la F-Box  $\beta$ TrCP ou  $SCF^{\beta TrCP}$  permet la dégradation de CDC25A au cours de la phase S ou durant la phase G2 pour permettre l'arrêt du cycle et la réparation de l'ADN (Nakayama and Nakayama 2005). Le second complexe ubiquitine-ligase E3 important est le complexe promoteur de l'anaphase/Cyclosome ou APC/C « *anaphase promoting complex/Cyclosom* » qui induit la dégradation de toutes les CCN à l'exception de CCNE (**Fig. 2** ;(Vodermaier 2004)). APC/C permet également le franchissement du point de contrôle de la métaphase, le SAC « *Spindle assembly checkpoint* », en dégradant la sécurine et la CCNB1, qui coopèrent pour maintenir le SAC (voir détails ci-dessous, cf. Régulation de la mitose).



**Figure 2 Régulation des complexes CDK-CCN** : **A**, Régulation générale des complexes CDK-CCN. Les CKI inhibent les CDK ; La famille CIP/KIP, avec les protéines  $p21^{cip}$ ,  $p27^{kip1}$  et  $p57^{kip2}$ , régule toutes les CDK dans le cycle cellulaire,  $p27^{kip1}$  jouant un rôle majeur en phase G1 et étant essentielle à la sortie du cycle précédant l'entrée en quiescence. La régulation WEE1-CDC25 contrôle l'activité des CDK en régulant leur état de phosphorylation. WEE1 dépose une phosphorylation inhibitrice, tandis que CDC25 élimine cette phosphorylation, activant ainsi les CDK. Le complexe CAK active les CDK-CCN par une phosphorylation activatrice. La dégradation des CKI, des cyclines et d'autres régulateurs du cycle cellulaire est orchestrée par le protéasome 26S via l'ubiquitinylation dirigée par les complexes ubiquitine-ligase E3. Deux complexes principaux sont impliqués : le SCF, qui dégrade la CKI  $p27^{kip1}$  et la cycline CCNE **B**, Régulation de CDK4/6 par la famille des INK4. La famille INK4 inhibe uniquement CDK4/6, empêchant son interaction avec les cyclines par une modification allostérique. Les étoiles indiquent les CDK actives, « ub » représente l'ubiquitine, P représente le groupement phosphate.



## 2. Régulation de la phase G1

### a) *Vue d'ensemble et spécificité de la phase G1*

La régulation de la progression de la phase G1 est un sujet longuement étudié au travers des années (Howard and Pelc, 1953), mais du fait de sa grande complexité, certaines zones d'ombre demeurent et font l'objet de différents modèles théoriques (Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016). Malgré tout, un solide consensus existe permettant d'avoir une vision relativement claire des mécanismes de régulation à l'œuvre.

Le cœur de la régulation de la phase G1 s'articule autour du couple formé par la protéine du rétinoblastome (RB) et du facteur de transcription E2F. Le facteur de transcription E2F active la transcription des gènes nécessaires à l'entrée en phase S, tandis que RB inhibe l'activité transcriptionnelle de E2F. Deux couples de CDK-CCN sont impliqués dans la progression de la phase G1 et dans la transition G1/S (**Fig. 1**). Le premier couple est formé par la cycline D (CCND) avec l'une ou l'autre des kinases CDK4 ou CDK6. Le second couple est quant à lui constitué de la cycline E (CCNE) et de la kinase CDK2. Ces deux couples CDK-CCN sont capables de phosphoryler RB ; la phosphorylation de RB a pour effet de relâcher l'inhibition que ce dernier exerce sur E2F et ainsi de promouvoir la transcription des effecteurs de la phase S (Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016; Cao et al. 1992).

Il existe un second niveau de régulation qui s'articule autour d'un point d'inflexion particulier, le point de restriction ou point START, qui divise la phase G1 en deux (**Fig. 4**). En amont de ce point de restriction (point R), le couple CDK4/6-CCND est majoritaire et le système de régulation de la phase G1 est sensible aux stimuli extérieurs à la cellule, notamment aux facteurs de croissance (**Fig. 1 & 4**) ; on parle alors de phase G1 post-mitotique (G1-pm) ou de phase G1 précoce. En aval du point de restriction, le couple CDK2-CCNE devient dominant et le système de régulation devient autonome-cellulaire (**Fig. 1 & 4**). À ce stade du cycle cellulaire, seule l'activation du facteur de transcription p53 en réponse aux dommages causés à

l'ADN est encore capable de bloquer l'entrée en phase S, permettant ainsi la réparation de l'ADN ou l'induction de l'apoptose (Bargonetti and Manfredi 2002). On parle alors de phase G1 pré-synthétique (G1-ps) ou de G1 tardive.

### *b) Régulation de la voie CDK-RB-E2F*

Le facteur de transcription E2F est la pierre angulaire permettant d'initier la transition G1/S. Ses capacités de transcription sont inhibées par son interaction avec RB ; ainsi, pour pouvoir effectuer la transition de la phase G1 à la phase S et initier la synthèse de l'ADN, il est nécessaire de relâcher l'action inhibitrice de RB. Cette tâche revient aux deux couples CDK4/6-CCND et CDK2-CCNE actifs durant la phase G1, qui sont capables de phosphoryler RB sur l'un de ses 15 sites de phosphorylation. Il existe différents modèles concernant la dynamique de phosphorylation de RB par les CDK-CCN (Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016).

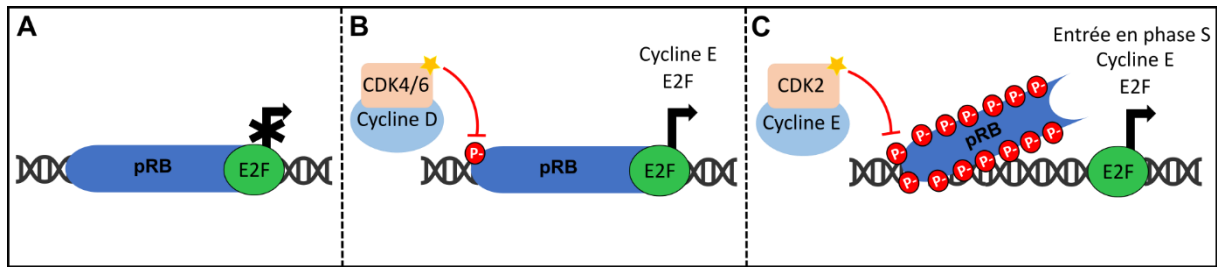
Le modèle canonique suppose une phosphorylation continue et progressive de RB tout au long de la phase G1. Dans un premier temps (phase G1 précoce), le couple CDK4/6-CCND commence à phosphoryler certains des 15 sites de phosphorylation de RB. Cette hypophosphorylation a pour effet une diminution de l'inhibition de E2F qui induit la transcription de certains gènes favorisant la transition G1/S, notamment E2F lui-même, SKP2 et CCNE. La transcription de CCNE entraîne la formation du couple CDK2-CCNE et l'activation de la kinase CDK2, initiant une boucle de rétroaction positive CDK2-RB-E2F. En effet, le couple CDK2-CCNE permet l'hyperphosphorylation de RB et la levée de l'inhibition d'E2F, entraînant l'activation de la transcription de CCNE. L'existence de cette boucle de rétroaction positive auto-entretenu est l'explication classique apportée à l'existence du point de restriction START et à l'apparente irréversibilité de la phase G1 tardive. Le complexe CDK4/6-CCND aurait également un effet de tampon : en se liant aux inhibiteurs de CDK de la famille CIP/KIP, p21<sup>cip</sup> et p27<sup>kip1</sup>, il limiterait leur interaction avec le couple CDK2-CCNE, favorisant ainsi l'activité de ce dernier complexe (Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016).

Des études récentes commencent cependant à mettre en doute ce modèle canonique et semblent pointer vers deux modèles alternatifs.

Le premier modèle alternatif se base sur des quantifications précises des niveaux de phosphorylation de RB observés chez des cellules synchronisées (Sanidas et al. 2019). Dans ce modèle, CDK4/6-CCND monophosphoryle RB sur l'un de ses 15 sites, en produisant différentes formes de RB monophosphorylées en fonction du site ciblé. Ces monophosphorylations ne modifieraient pas les capacités inhibitrices de RB, mais les différentes formes de RB monophosphorylées pourraient former des complexes avec d'autres facteurs tels que le complexe de remodelage de la chromatine NURD. Dans ce modèle toujours, c'est uniquement l'effet tampon exercé par le complexe CDK4/6-CCND sur les inhibiteurs de CDK de la famille CIP/KIP, p21<sup>cip</sup> et p27<sup>kip1</sup>, qui favoriserait l'activité du couple CDK2-CCNE, seul capable d'hyperphosphoryler RB (Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016).

Un autre modèle alternatif propose quant à lui que le complexe CDK4/6-CCND soit nécessaire et suffisant pour hyperphosphoryler RB et pour déclencher la transition G1/S. Le complexe CDK2-CCNE serait quant à lui nécessaire au maintien de l'hyperphosphorylation de RB en phase S et au maintien de la boucle de rétrocontrôle CDK-RB-E2F (Chung et al. 2019; Yang et al. 2020).

Bien que n'ignorant pas les perspectives théoriques nouvelles qui semblent remettre en cause le modèle canonique de la voie CDK-RB-E2F, par mesure de clarté, je me baserai sur ce dernier du fait de son antériorité dans la suite de ce travail.



**Figure 3 Régulation de la voie CDK-RB-E2F :** **A**, La transcription des effecteurs de la transition G1/S par E2F est inhibée par RB ; **B**, Dans la phase G1 précoce, CDK4/6-CCND hypophosphoryle RB, diminuant son inhibition sur E2F et initiant la transcription de gènes tels que E2F lui-même, SKP2 et CCNE ; **C**, La transcription de CCNE conduit à la formation de CDK2-CCNE, activant CDK2 et amorçant une boucle de rétroaction positive CDK2-RB-E2F. Cette boucle auto-entretenu explique le franchissement du point de restriction START et la progression apparemment irréversible de la phase G1 tardive. L'hyperphosphorylation lève complètement l'inhibition d'E2F et initie la transition G1/S. Les étoiles indiquent les CDK actives, P représente le groupement phosphate.

### c) Les régulateurs de l'activité des couples CDK-CCN au cours de la phase G1

#### (1) Les inhibiteurs de CDK des familles CIP/KIP et INK4

En phase G1, l'inhibition de l'activité kinase de CDK4/6 et CDK2 est dépendante des inhibiteurs de la famille des protéines CIP/KIP, principalement p27<sup>kip1</sup> et p21<sup>cip</sup> (**Fig. 2 & 4**). La protéine p27<sup>kip1</sup> est l'un des inhibiteurs majeurs des complexes CDK4/6-CCND et CDK2-CCNE. Elle favorise la sortie du cycle cellulaire en G0, en inhibant la capacité des complexes CDK-CCN à phosphoryler RB. La protéine p21<sup>cip</sup>, quant à elle, inhibe la transition G1/S en aval de la voie p53, en réponse à d'éventuels dommages à l'ADN. La seconde famille de CKI est celle des INK4, constituée des protéines p16<sup>INK4A</sup>, p15<sup>INK4B</sup>, p18<sup>INK4C</sup> et p19<sup>INK4D</sup> (**Fig. 2**). Les protéines de la famille des INK4 inhibent spécifiquement CDK4/6 en se liant directement à lui, ce qui entraîne une modification allostérique de CDK4/6 bloquant sa capacité d'interaction avec CCND. Il est à noter que, malgré une action directe spécifiquement ciblée sur CDK4/6, les INK4 semblent également capables de moduler indirectement l'activité du complexe CDK2-CCNE. En effet, en inhibant l'interaction entre CCND et CDK4/6, les INK4 réduisent la quantité de complexe CDK4/6-CCND, diminuant ainsi l'effet tampon du complexe

sur p27<sup>kip1</sup>. Ainsi, il y a une augmentation de la disponibilité en p27<sup>kip1</sup> capable d'inhiber le complexe CDK2-CCNE (Matthews, Bertoli, and de Bruin 2022; Weston and Barr 2023).

### (2) Levée de l'inhibition et activation des couples CDK-CCN en phase G1

La levée de l'inhibition pesant sur les couples CDK-CCN ainsi que leur activation permet de favoriser la progression de la phase G1 et la transition G1/S. Cette activation implique l'action concomitante de différents effecteurs. Dans un premier temps, la levée de l'inhibition des complexes CDK-CCN par les CKI est assurée par la dégradation protéasome-dépendante de p27<sup>kip1</sup>. Cette dégradation est médiée par le complexe ubiquitine ligase SCF associé à la protéine F-Box SKP2 (**Fig. 2 & 4** ; (Nakayama and Nakayama 2005)). Suite à la dégradation de p27<sup>kip1</sup>, CDC25A supprime la phosphorylation inhibitrice appliquée par WEE1 à la kinase CDK (**Fig. 2 & 4**). L'activité kinase de la CDK est alors potentialisée par la phosphorylation activatrice appliquée par la CAK (**Fig. 2 & 4**). Une fois pleinement activées, les CDK-CCN peuvent initier la voie CDK-RB-E2F (**Fig. 3** ; (Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016)).

### (3) Intégration des facteurs extra-cellulaire

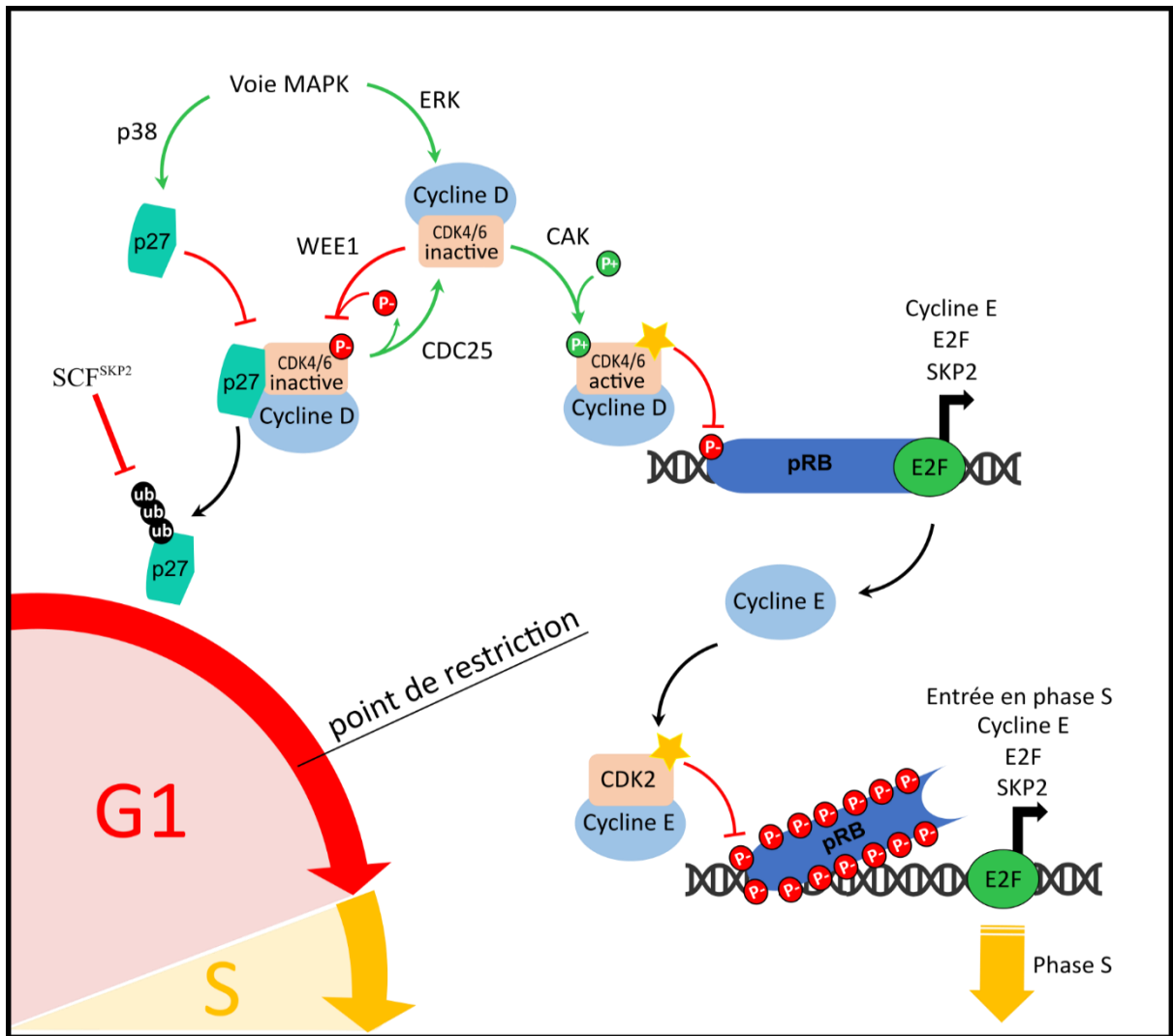
Au cours de la phase G1 précoce, les CKI et les activateurs des complexes CDK-CCN se trouvent en aval de nombreuses voies de signalisation (**Fig. 4**). Ces voies permettent l'intégration de paramètres intracellulaires tels que le volume de la cellule (Grebien et al. 2005), l'adhésion de la cellule à un substrat (Levenberg et al. 1999), mais également l'intégration de facteurs extracellulaires. L'intégration de ces différents signaux est essentielle pour que le cycle cellulaire ne se comporte pas comme un système fermé indépendant des stimuli extérieurs, tel qu'on peut l'observer au cours du développement embryonnaire précoce. Ces signaux permettent notamment l'inhibition du contact, le maintien de l'intégrité des tissus ainsi que la croissance coordonnée des tissus via des facteurs de croissance.

L'intégration des signaux liés aux facteurs mitogènes implique une grande diversité de récepteurs et de cascades de phosphorylation pour aboutir à l'induction de la mitose ou de la

quiescence. Ces voies d'intégration des signaux mitogènes sont regroupées sous le nom de voies MAP kinases pour « *Mitogen-activated protein kinases* ». Il existe 5 grands groupes de MAP kinases : la MAPK p38, ERK1/2, ERK5, Jun N-terminal Kinase (JNK) et enfin le groupe des MAPK atypiques.

Les voies centrées sur la MAPK p38 sont majoritairement vectrices de signaux pro-quiescence et illustrent le rôle des facteurs favorisant l'arrêt ou le ralentissement du cycle cellulaire (Martínez-Limón et al. 2020). La MAPK p38 se trouve notamment en aval de la voie des interleukines. La cascade de phosphorylation impliquée dans cette voie est initiée par la dimérisation d'une interleukine avec le récepteur membranaire IL6ST/GP130, induisant la phosphorylation d'une petite protéine G à l'origine de la cascade de phosphorylations activatrices MAP3K-MKK3/6-p38. Une fois phosphorylée, p38 est capable de réprimer le cycle cellulaire en régulant positivement l'activité des inhibiteurs de la famille des CIP/KIP et des INK4, directement ou indirectement, notamment via la phosphorylation activatrice du suppresseur de tumeur p53.

La voie d'intégration centrée sur ERK1/2 ou ERK « *Extracellular signal-Regulated Kinases* » est vectrice de signaux prolifératifs et permet de comprendre comment les facteurs mitogènes participent à faire progresser le cycle au cours de la phase G1 précoce. ERK est la MAP kinase se trouvant en aval de la voie du facteur de croissance EGF « *Epidermal Growth Factor* ». La cascade de phosphorylation impliquée dans la voie de l'EGF est initiée par la dimérisation du facteur de croissance EGF avec son récepteur membranaire EGFR « *Epidermal Growth Factor Receptor* », induisant la phosphorylation de la petite protéine G, Ras, à l'origine de la cascade de phosphorylations activatrices RAS-RAF-MEK-ERK. Une fois phosphorylée, ERK promeut la synthèse de CCND1 via la transcription et la stabilisation des facteurs de transcription C-Myc et C-Fos (Weston and Barr 2023).



**Figure 4 Modèle de régulation de la phase G1** : La régulation de la phase G1 du cycle cellulaire est orchestrée par un réseau complexe de signaux et d'interactions moléculaires. Elle est centrée sur le couple RB-E2F, où E2F est un facteur de transcription, activant des gènes nécessaires à la phase S tandis que RB inhibe cette activité. Deux couples, CDK4/6-CCND et CDK2-CCNE, agissent en phosphorylant RB, levant ainsi son inhibition sur E2F et permettant la progression vers la phase S. Le point de restriction START divise la phase G1 en deux parties, où le couple CDK4/6-CCND domine en amont et le couple CDK2-CCNE devient dominant en aval. Les inhibiteurs de CDK (CKI), tels que  $p27^{kip1}$  et  $p21^{cip}$ , ainsi que les protéines de la famille INK4, régulent l'activité des complexes CDK-CCN. La levée de l'inhibition des CKI et l'activation des CDK-CCN sont essentielles pour favoriser la progression de la phase G1 vers la phase S. De plus, les signaux extracellulaires, intégrés par des voies de signalisation telles que les MAP kinases, influencent également la régulation de la phase G1, permettant une réponse adaptative aux stimuli environnementaux et une coordination avec d'autres processus cellulaires. Les étoiles indiquent les CDK actives, « ub » représente l'ubiquitine, P représente le groupement

### 3. Régulation de la phase S

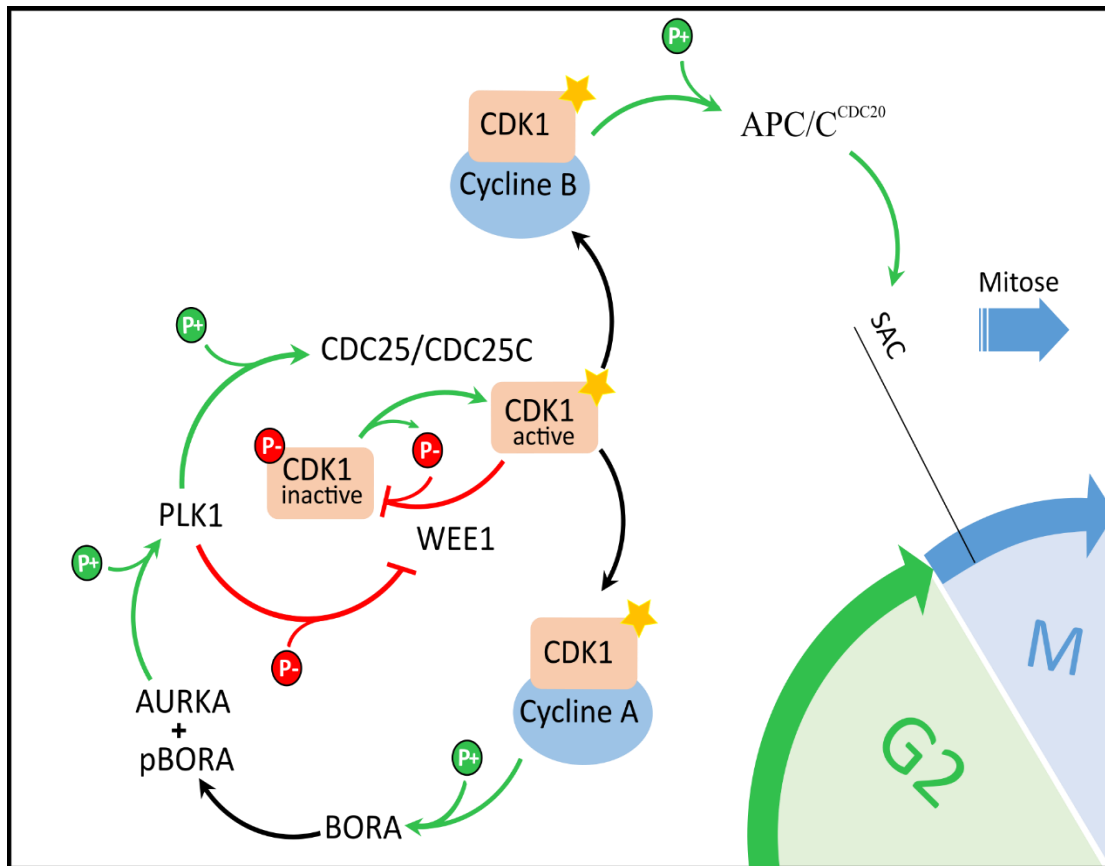
La régulation de la phase S est principalement sous le contrôle des voies impliquant les Sérine/Thréonine kinases ATR-CHK1 et ATM-CHK2 ainsi que de la voie p53. Ces voies assurent le maintien de l'intégrité de l'ADN et le bon déroulement de la réplication en contrôlant, si nécessaire, l'arrêt de la fourche de réplication. Je ne développerai pas plus avant les mécanismes complexes liés à la régulation de la phase S par ATR-CHK1 et ATM-CHK2 mais je tiens cependant à mettre en lumière la régulation médiée par la cycline A (CCNA) avant et après la phase S (**Fig. 1**).

En effet, bien que les mécanismes sous-jacents restent à éclaircir, il semble que CCNA participe à la mise en place de la machinerie de réplication ou « *licensing* » au cours de la phase G1 en interagissant avec MCM7, une protéine du complexe hélicase MCM, l'un des composants de la fourche de réplication de l'ADN (Chibazakura et al. 2011) via une interaction dépendante des CDK, sans que la CDK spécifiquement impliquée ait pu être identifiée. Le complexe CDK2-CCNA semble quant à lui promouvoir l'initiation de la réplication ou « *firing* », en agissant en aval de la voie ATR-CHK1, via des mécanismes restant à élucider (Katsuno et al. 2009). Enfin, le complexe CDK1-CCNA participe à l'inhibition de la re-réplication en phase G2 en bloquant, par l'intermédiaire de phosphorylations inhibitrices, l'activité de CDT1 ou « Chromatin licensing and DNA replication factor 1 » (Truong and Wu 2011; Y. Zhou et al. 2020), une protéine qui participe au « *licensing* » en recrutant des protéines du complexe hélicase MCM.



#### 4. Régulation de la phase G2 et de la transition G2/M

La régulation de la phase G2 s'articule principalement autour de la protéine CDK1 et de l'équilibre entre la kinase WEE1 et la phosphatase CDC25. CDK1 est la protéine CDK spécifique de la phase G2 et de la transition G2/M au cours desquelles elle est associée respectivement aux cyclines A et B1 (CCNB1) (**Fig. 1 & 5**). La kinase WEE1 inhibe l'activité kinase de CDK1 en phosphorylant sa Thr14 et sa Tyr15 (**Fig. 5**). Inversement la phosphatase CDC25 permet la déphosphorylation de CDK1 et donc la stimulation de son activité kinase (**Fig. 5** ; (Dunphy and Kumagai 1991, Crncec and Hocheegger 2019)). L'évolution du ratio entre l'activité de WEE1 et de CDC25 permet la progression de la phase G2 puis le déclenchement de la transition G2/M. Au cours de la phase G2, le couple formé par l'association de CCNA et de CDK1 activée est responsable de la phosphorylation de BORA, un cofacteur de la Kinase Aurora A (AURKA) (**Fig. 5**). Le cofacteur BORA ainsi phosphorylé (pBORA) est capable de s'associer et d'activer Aurora A (**Fig. 5** ; (Tavernier et al. 2021)). Le complexe AURKA+pBORA ainsi formé phosphoryle ses propres cibles, notamment la kinase POLO 1 (PLK1), un acteur central de la transition G2/M (Tavernier et al. 2021). Une fois phosphorylée, PLK1 est à l'origine d'un rétrocontrôle positif permettant l'amplification de sa propre boucle d'activation. En effet, WEE1 et CDC25 sont deux des cibles de PLK1 et leur phosphorylation par cette dernière est à l'origine d'une inhibition de l'activité de WEE1 et d'une augmentation de l'activité de CDC25 (**Fig. 5**). Cette modification de l'équilibre des forces entre WEE1 et CDC25 augmente la fraction de CDK1 activée, amplifiant notablement la fraction de PLK1 activée. En outre, chez les vertébrés, c'est l'activation par phosphorylation dépendante de PLK1 du produit du gène paralogue CDC25C qui permet l'activation du complexe CDK1-CCNB1 (**Fig. 5** ; (de Gooijer et al. 2017)). Une fois activé, le complexe CDK1-CCNB1 phosphoryle ses substrats, en particulier le complexe APC/C (voir ci-dessous), permettant ainsi la transition G2/M (Tavernier et al. 2021).



**Figure 5 Régulation de la phase G2 :** La régulation de la phase G2 du cycle cellulaire repose principalement sur l'équilibre entre l'activité de la kinase WEE1 et de la phosphatase CDC25, qui contrôlent l'activité de la protéine CDK1. CDK1, associée aux cyclines A et B1, est spécifique de la phase G2 et la transition vers la phase M. WEE1 inhibe CDK1 en la phosphorylant, tandis que CDC25 la déphosphoryle, stimulant ainsi son activité kinase. L'évolution du ratio entre WEE1 et CDC25 permet la progression de la phase G2 et le déclenchement de la transition G2/M. Pendant la phase G2, l'association de CCNA et de CDK1 activé phosphoryle BORA, qui à son tour active Aurora A. Le complexe AURKA+pBORA phosphoryle PLK1, déclenchant ainsi une boucle d'activation positive de PLK1. PLK1, à son tour, phosphoryle WEE1 et CDC25, modifiant leur activité pour augmenter la fraction de CDK1 activée. L'activation de CDC25C par PLK1 permet l'activation du complexe CDK1-CCNB1, qui phosphoryle ses substrats, notamment le complexe APC/C, conduisant ainsi à la transition G2/M. Les étoiles indiquent les CDK actives, P représente le groupement phosphate.

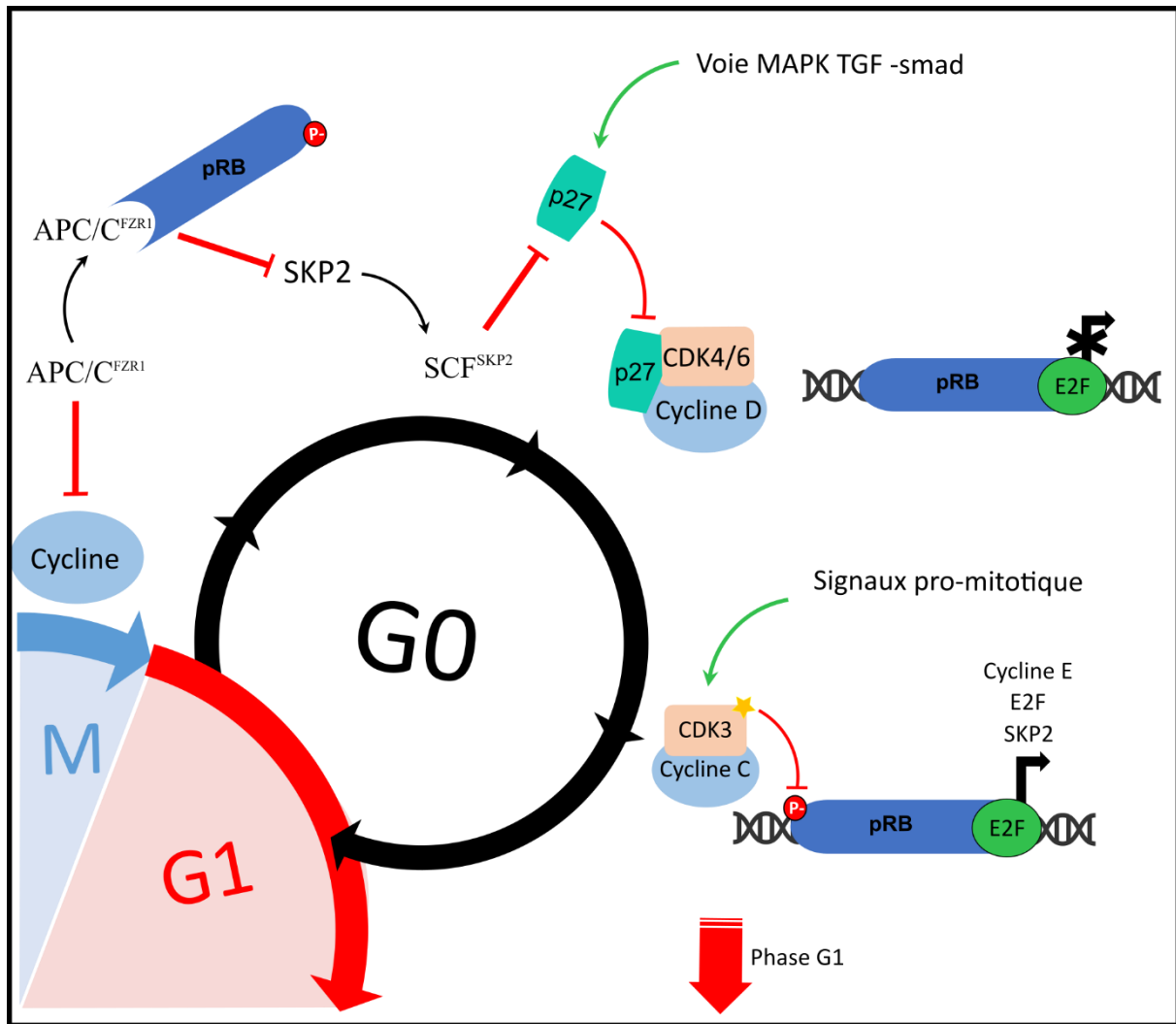
## 5. Régulation de la mitose

La progression de la mitose est sous le contrôle du complexe ubiquitine-ligase E3 APC/C et de ses coactivateurs CDC20 et FZR1/Cdh1 (**Fig. 5**). Suite à la transition G2/M, un point de contrôle doit être franchi, le point de contrôle de la métaphase ou « Spindle assembly checkpoint » (SAC) (**Fig. 5**). Ce point de contrôle permet l'alignement des chromosomes et la bonne fixation du fuseau mitotique aux kinétochores des chromatides sœurs en bloquant leur dissociation. Les principaux acteurs du SAC sont les cohésines, qui assurent la cohésion des chromatides sœurs, et la sécurine une protéine inhibant la séparase, une protéase assurant la dégradation des cohésines. Suite à son activation en phase G2, le complexe CDK1-CCNB1 participe à l'activation d'APC/C par l'intermédiaire de phosphorylations permettant la charge du coactivateur CDC20 (Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016). Le complexe APC/C<sup>CDC20</sup> ainsi activé induit la dégradation de la sécurine et de la CCNB1. La dégradation de la sécurine permet la libération de la séparase tandis que la dégradation de CCNB1 permet l'activation de la séparase par la levée d'une phosphorylation inhibitrice dépendante du complexe CDK1-CCNB1. Ainsi activée la séparase induit la dégradation de la cohésine et donc le franchissement du SAC (Vodermaier 2004; Fujimitsu, Grimaldi, and Yamano 2016). Le coactivateur FZR1 est chargé dans le complexe APC/C en fin de mitose pour assurer la transition M/G1 en prévenant la ré-accumulation des cyclines (**Fig. 6**).

## 6. La sortie du cycle cellulaire : la phase G0

Enfin les cellules sont capables de sortir du cycle cellulaire pour entrer en phase G0 aussi appelée quiescence. La quiescence est une forme de sortie du cycle se produisant généralement en fin de mitose et au cours de laquelle la cellule conserve sa capacité à retourner dans le cycle cellulaire sous l'influence d'une stimulation pro-mitotique (Coller, Sang, and Roberts 2006; Turlings et al. 2008). Contrairement à la phase G1, la régulation qui sous-tend l'entrée et le maintien de la phase G0 est moins bien connue, mais on sait qu'elle nécessite un contrôle transcriptionnel et post-transcriptionnel (Sun and Buttitta 2017, Marescal and Cheeseman 2020). La quiescence est associée à un taux élevé de CKI, notamment p21<sup>cip</sup> et p27<sup>kip1</sup> (Besson et al. 2006). L'entrée et le maintien dans la phase G0 impliquent une dominance des facteurs pro-quiescence activés notamment par les voies TGFβ1, WNT4 et IL6 (**Fig. 6** ; (Batard et al. 2000; Eliazar et al. 2019; Sampath et al. 2018)). De plus, RB semble jouer un rôle important dans le maintien de la quiescence, premièrement grâce à son rôle de répresseur d'E2F mais également de manière E2F indépendante. En effet, dans les cellules quiescentes, il semble que RB hypophosphorylé s'associe avec le complexe APC/C<sup>FZR1</sup> pour cibler et dégrader le cofacteur SKP2 du SCF, empêchant ainsi le complexe SCF<sup>SKP2</sup> de dégrader p27<sup>kip1</sup> (**Fig. 6** ; (Binné et al. 2007)).

La sortie de la phase G0 semble quant à elle impliquer un couple cycline-CDK particulier, le couple CDK3-CCNC (**Fig. 1 & 6**), dont l'ARN messager est présent en grande quantité dans les cellules sortant de la phase G0. Ce couple spécialisé dans la sortie de la quiescence semble phosphoryler RB, levant ainsi l'inhibition de E2F et induisant la reprise de la phase G1 (Ren and Rollins 2004).



**Figure 6 Entrée et sortie de la phase G0** : L'entrée dans la phase G0 et le maintien en quiescence nécessitent un contrôle à la fois transcriptionnel et post-transcriptionnel, notamment par des facteurs tels que  $p21^{cip}$  et  $p27^{kip1}$ . Les voies  $TGF\beta 1$ ,  $WNT4$  et  $IL6$  jouent un rôle dans l'activation des facteurs pro-quiescence. RB joue un rôle essentiel dans le maintien de la quiescence en réprimant l'activité de E2F et en interagissant avec le complexe  $APC/C^{FZR1}$  pour stabiliser  $p27^{kip1}$ . La sortie de la phase G0 implique l'action spécifique du couple cycline-CDK  $CDK3-CCNC$ . Ce couple phosphoryle RB, levant ainsi l'inhibition de E2F et permettant la reprise du cycle cellulaire en phase G1. Les étoiles indiquent les CDK actives, P représente le groupement phosphate.

## C. Activation du génome et introduction des interphases G2 et G0/G1

Chez les métazoaires, l'activation du génome zygotique survient au cours de l'embryogénèse précoce et permet la transition entre la transcription maternelle et embryonnaire (Tadros and Lipshitz 2009; Farrell and O'Farrell 2014; Wong et al. 2022; C. Y. Zhou and Heald 2023). L'activation du génome zygotique est corrélée avec l'introduction dans le cycle cellulaire des phases G2 et G1 par l'intermédiaire de mécanismes demeurant relativement méconnus pour la plupart des organismes modèles. Chez la plupart des métazoaires, l'introduction des phases G2 et G1 semble se faire de façon cellule spécifique ou dépendre du temps de développement. L'introduction des phases G2 et G1 marque généralement la transition entre une phase plus ou moins longue de clivages embryonnaires au cours de laquelle les divisions sont synchrones et une phase présentant des cycles cellulaires matures permettant l'introduction de divisions asynchrones (M. T. Lee, Bonneau, and Giraldez 2014; Pálffy, Joseph, and Vastenhouw 2017). Il est cependant intéressant de noter que chez *C. elegans* il existe des divisions asynchrones avant l'introduction des phases G2 et G1.

## II. La différenciation cellulaire

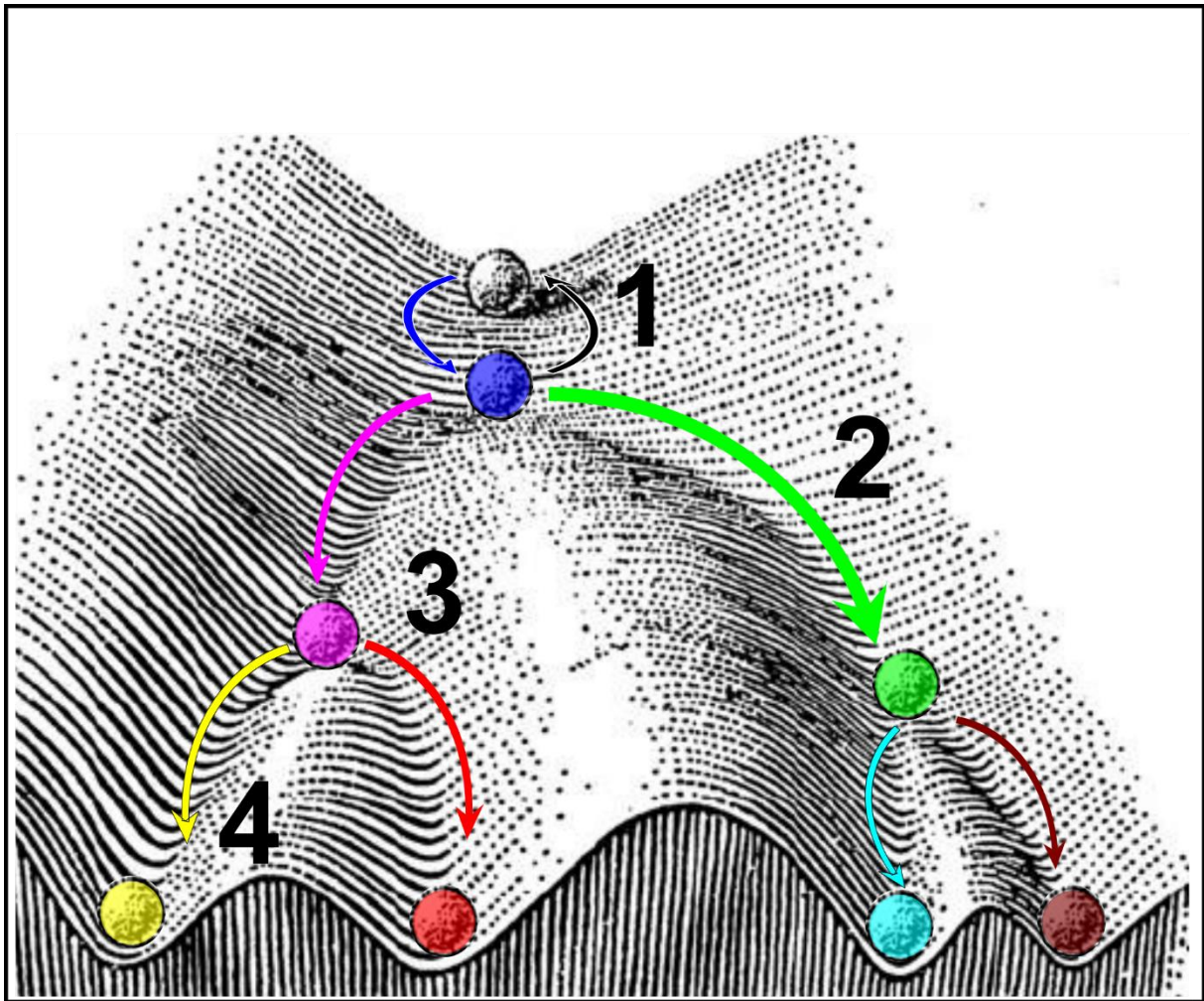
### A. Définition et principes généraux

La différenciation cellulaire est le processus au travers duquel une cellule acquiert une fonction spécifique. Cette acquisition de fonction s'accompagne à minima de modifications transcriptionnelles et structurelles ainsi que d'une perte de potentiel de différenciation.

#### 1. Notion de potentiel de différenciation

##### a) *Le « paysage épigénétique » de Waddington*

La notion de potentiel de différenciation est centrale pour comprendre les processus de différenciation cellulaire. Dans un article de 1940, le généticien Conrad H. Waddington utilise la métaphore du « paysage épigénétique » pour faire comprendre intuitivement la notion de potentiel de différenciation et les contraintes qui lui sont associées (Waddington, C. H., 1940). Il imagine une cellule placée dans un col au sommet d'un paysage vallonné. À partir de ce point, la cellule ne peut que descendre au travers des vallées qui constituent le paysage et s'arrêter au prochain col en aval. Chaque fois que la cellule descend, elle s'engage sur un chemin qui représente une voie de différenciation et une fois engagée elle ne peut plus faire marche arrière, car elle n'est pas capable de remonter spontanément la pente. Chaque descente dans une vallée correspond donc à un choix fermant la porte aux autres trajectoires et destinations qui ne sont accessibles qu'en amont. De la même manière, une cellule qui s'engage sur une voie de différenciation au cours du développement ne peut pas spontanément faire marche arrière, et lorsqu'elle s'engage dans un destin cellulaire particulier elle perd en général en potentiel, en capacité à donner certains types de destin cellulaire.



**Figure 7 La métaphore du "paysage épigénétique" de Conrad H. Waddington** : La cellule grise possède un potentiel maximal, elle est totipotente. Elle peut donner tous les types cellulaires possibles en s'engageant dans une voie de différenciation, pour atteindre un destin cellulaire (cellules colorées). **1**, correspond à la période de spécification, son engagement demeure réversible. Les voies magenta et verte correspondent à deux engagements différents menant à deux destins cellulaires différents, le destin magenta et le destin vert. **2**, correspond à une détermination, un engagement irréversible. **3**, les cellules magenta et verte ont un potentiel plus faible que la cellule grise, elles ne donnent accès qu'à deux destins possibles, elles sont donc oligopotentes. **4**, Il s'agit des cellules ayant subi une différenciation terminale. Leur potentiel est nul, elles ne peuvent plus se diviser et sont totalement différenciées. Modifiée à partir de (Waddington, C. H., 1940)



## *b) L'échelle des potentiels de différenciation*

Ainsi, au cours du cycle de vie d'un organisme, la cellule œuf est la cellule présentant le plus grand potentiel de différenciation, car elle est à l'origine de toutes les lignées cellulaires constituant l'organisme, elle est au sommet du paysage épigénétique de Conrad H. Waddington, on dit qu'elle est totipotente (**Fig. 7**).

Le potentiel de différenciation cellulaire décroît rapidement au cours de l'embryogenèse précoce. Chez les organismes triploblastiques, la cellule œuf se divise pour donner naissance à différents précurseurs dits pluripotents, capables de donner des cellules germinales ainsi que chacun des trois feuilletts embryonnaires que sont l'ectoderme, le mésoderme et l'endoderme.

Chez l'Homme adulte, il n'existe plus que des cellules-souches dites multipotentes et oligopotentes siégeant au sein des tissus et capables de produire, respectivement, tout ou partie des différentes cellules spécialisées constituant leur tissu de résidence. Certaines cellules-souches ne sont capables de produire qu'un seul et unique type de cellules spécialisées, elles sont dites unipotentes (**Fig. 7**).

## **2. Le concept de destin cellulaire**

Le concept de destin cellulaire correspond à une vallée dans le modèle de Waddington, accessible en aval d'un point de référence donné. Plus une cellule descend le long du paysage de Waddington plus le nombre de vallées atteignable est restreint. Ainsi, plus le potentiel d'une cellule est faible, plus le choix de destins cellulaires est restreint (**Fig. 7**).

### 3. Notion de « *commitment* » ou d'engagement

La métaphore de Waddington permet également de comprendre la notion plus subtile de « *commitment* » ou d'engagement. Là où le destin cellulaire représente un état stable, une vallée, l'engagement correspond au processus menant vers un destin, à l'image d'une cellule engagée dans une pente entre deux vallées dans la métaphore de Waddington. On peut subdiviser le processus d'engagement en deux sous-étapes (**Fig. 7**).

#### a) *La spécification*

La spécification correspond à une forme d'engagement réversible. On dit qu'une cellule est spécifiée lorsqu'elle est capable de se différencier de façon autonome même isolée dans un environnement neutre (boîte de pétri, tube), mais que son engagement demeure réversible si elle est placée dans un autre environnement (**Fig. 7**).

#### b) *La détermination*

La détermination correspond à une forme d'engagement irréversible. On dit qu'une cellule est déterminée lorsqu'elle est capable de se différencier de façon autonome même lorsqu'elle est placée dans un autre environnement (**Fig. 7**).

### 4. Les modes de spécifications

Chez les métazoaires, il existe différentes manières d'induire le processus d'engagement. Dans ce contexte, on parle de mode de spécification et non de mode d'engagement, la spécification étant la première phase de l'engagement. Il existe 3 grands modes de spécification décrits en 1991 par Davidson (Davidson 1991) et formalisés par Gilbert (Gilbert SF. 2000).

### a) *La spécification autonome*

Le premier mode de spécification est appelé spécification autonome ou spécification mosaïque. Ce mode de spécification majoritaire chez les invertébrés est centré sur le principe de la brisure de symétrie par la ségrégation asymétrique de déterminants cytoplasmiques maternels (protéines, ARNm) au sein de la cellule, soit de façon cellulaire autonome soit sous l'influence du voisinage cellulaire. Cette ségrégation différentielle des déterminants cytoplasmiques induit une division asymétrique du contenu cytoplasmique au cours de la mitose qui déterminera le destin cellulaire des deux cellules filles. Ce mode de spécification se caractérise par une perte rapide de potentiel, pratiquement à chaque division. Ainsi, en cas de destruction d'un blastomère, tous les organes et toutes les structures découlant de ce blastomère sont perdus et aucune compensation n'est possible. *Caenorhabditis elegans* est l'un des organismes modèles caractéristiques de ce mode de spécification (Davidson 1991; Gilbert SF. 2000).

### b) *La spécification conditionnelle*

Le second mode de spécification est appelé spécification conditionnelle ou régulée. Contrairement au mode de spécification autonome, la spécification conditionnelle se caractérise par un maintien relatif du potentiel de tous les blastomères. La restriction du destin cellulaire se fait sous le contrôle de facteurs extrinsèques tel que des interactions cellules-cellules ou via des gradients de morphogènes régionaux influençant les cellules selon leurs concentrations. Si un blastomère est déplacé dans une autre région de l'embryon, il adoptera le destin induit par son nouvel environnement. De même, si un blastomère est détruit, les cellules environnantes sont capables de compenser son absence. Il s'agit du mode de développement majoritaire chez les vertébrés (Davidson 1991; Gilbert SF. 2000).

### *c) La spécification syncytiale*

Le dernier mode de spécification est appelé spécification syncytiale, il est propre aux insectes. Dans ce mode, les premières divisions embryonnaires sont incomplètes et entraînent la formation d'une cellule œuf syncytiale. La spécification des noyaux de la cellule œuf est sous le contrôle de gradients de morphogènes s'établissant au sein du syncytium (Davidson 1991; Gilbert SF. 2000).

### *d) Notion de différenciation terminale et sortie du cycle cellulaire*

La différenciation terminale est un concept théorisant l'idée d'une ultime étape de différenciation impliquant un potentiel cellulaire nul et une sortie définitive du cycle cellulaire. Ce concept s'applique bien à certains types cellulaires subissant des modifications drastiques tel que les érythrocytes, les cellules du cristallin, les kératinocytes ou encore les neurones. Les cellules ayant atteint le stade de différenciation terminal présentent une forme de sortie du cycle différente de la quiescence, impliquant notamment des modifications de niveau de compaction de la chromatine sous le contrôle de différents complexes de remodelage de la chromatine (Ruijtenberg and van den Heuvel 2016).

## **B. Le processus de différenciation**

Ainsi, nous avons vu les grandes notions qui permettent de comprendre le principe de la différenciation cellulaire. Il s'agit donc d'un processus au cours duquel une cellule possédant un certain potentiel de différenciation s'engage par spécification puis détermination, pour atteindre un destin cellulaire de moindre potentiel, caractérisé par une fonction spécifique. Au-delà de ces considérations purement conceptuelles, il est légitime de se demander quels sont les médiateurs de l'engagement et à quoi correspondent biologiquement ces notions d'« acquisition de fonction » et de « perte de potentiel ». Puisqu'il existe autant de voies de différenciation que de cellules différenciées, je me contenterai de décrire des mécanismes relativement généraux et

représentatifs. Je reviendrai plus loin sur les mécanismes impliqués spécifiquement dans mon modèle d'étude, la différenciation de l'intestin chez *C. elegans*.

Sous l'influence de voies de signalisation activées par des inducteurs spécifiques tels que des facteurs cytoplasmiques ou un gradient de morphogène, la cellule cible se met à exprimer un ou des facteurs de transcription particuliers, regroupés sous le terme de facteurs de spécification ou de différenciation. Ces facteurs de transcription sont propres à un engagement particulier et induisent la transcription de leurs gènes cibles, dont les transcrits constitueront les réseaux de gènes impliqués dans l'acquisition des fonctions spécifiques de la cellule différenciée. Sous l'influence directe ou indirecte des facteurs de différenciation, des modifications du degré de compaction de la chromatine (Nacht et al. 2016) ainsi que de l'état de méthylation de certains gènes et promoteurs participent à la diminution du potentiel de la cellule en cours de différenciation. L'ensemble des transcrits produits par la cellule constitue son transcriptome, une signature propre permettant de caractériser son état de différenciation. L'ensemble de ces processus ainsi que des modifications d'autres paramètres de la cellule tels que des phénomènes d'épissages alternatifs (Fiszbein and Kornblihtt 2017), de transcription d'ARN régulateurs (X.-Y. Zhao et al. 2014) ou de modifications post-traductionnelles de protéines (Gomathi et al. 2020) constituent les manifestations biologiques des concepts caractéristiques de la différenciation cellulaire.

### III. Relations entre le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire

#### A. De nombreux mécanismes expliquent l'antagonisme entre prolifération et différenciation cellulaire

Au cours de l'embryogenèse, la coordination entre le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire est au cœur de nombreux processus développementaux, ces deux processus étant généralement inversement corrélés. Dans cette partie, je m'intéresserai à la diversité des mécanismes responsables de cet antagonisme entre prolifération et différenciation.

##### 1. Inhibition des facteurs de différenciation par les CDK

Puisque les CDK constituent les principales kinases liées à la régulation du cycle cellulaire et qu'elles phosphorylent de nombreux substrats, elles constituent une cible de choix dans la recherche d'une régulation faisant le lien entre cycle cellulaire et processus de différenciation. Les CDK peuvent réguler les facteurs de transcription en modifiant l'affinité des facteurs de transcription avec leurs promoteurs cibles, en favorisant leur dégradation par le protéasome ou en modifiant leur localisation cellulaire.

Concernant la modification de l'affinité des facteurs de différenciation pour leurs promoteurs cibles, ce mode d'action est notamment illustré par la régulation de la superfamille des facteurs de transcription à motif hélice-boucle-hélice basique ou « basic-Helix-Loop-Helix » (bHLH) de classe II et VI. Ces facteurs de différenciation possèdent plusieurs sites de phosphorylation sérine-proline ciblés par les CDK. L'affinité de ces facteurs de transcription avec leurs promoteurs cibles est modulée par l'état de phosphorylation de ces sites. Lorsque les facteurs bHLH de classe II sont déphosphorylés, ils possèdent une grande capacité d'interaction avec leurs promoteurs cibles. Inversement, plus ils possèdent de sites phosphorylés, plus leur affinité avec leurs promoteurs diminue (de Martin, Sodaei, and Santpere 2021).

Ainsi, ce type de régulation est impliqué au cours de la différenciation neuronale chez le Xénope *Xenopus laevis*, au cours de laquelle les facteurs bHLH de classe II, ASCL1 et Neurogenin 2 (NGN2), voient leur capacité à induire la différenciation neuronale être inhibée par leurs phosphorylations dépendantes des CDK (Wylie et al. 2015; Mcdowell et al. 2014). Ce mode de régulation est conservé chez la souris *Mus musculus* dans différents contextes de différenciation tels que la différenciation neuronale au travers de la phosphorylation du facteur NGN2 (Ali et al. 2011) ou au cours du développement du pancréas via la phosphorylation du facteur de différenciation NGN3 (Azzarelli et al. 2017). Enfin, au sein de l'intestin grêle et du côlon chez la souris, le facteur de différenciation de la famille bHLH de classe II, Atoh1, contrôle la différenciation des progéniteurs sécrétoires (Tomic et al. 2018). Dans ce contexte, Atoh1 participe également à la régulation de la régénération et de l'homéostasie du tissu intestinal en contrôlant la plasticité des progéniteurs sécrétoires. En effet, il a été montré que les progéniteurs sécrétoires de l'intestin grêle et du côlon de la souris sont capables de retrouver des capacités de cellules souches en réponse à des dommages au niveau des cryptes, via la phosphorylation d'Atoh1, qui inhibe leur différenciation sécrétoire et restaure leurs capacités souches.

La différenciation des muscles squelettiques chez la souris permet d'illustrer la régulation de la stabilité et de la localisation des facteurs de transcription par les CDK, respectivement au travers du cas des facteurs de transcription bHLH de classe II, « *myoblast determination protein* » (MyoD) et du facteur de transcription « *myocyte enhancer factor 2* » (MEF2). Ainsi, le couple CDK2-CCNE phosphoryle directement MyoD, diminuant son accumulation au cours de la phase G1 en favorisant sa dégradation par la voie du protéasome (Song et al. 1998; Kitzmann et al. 1999; Tintignac et al. 2000). De même, le couple CDK4-CCND semble réprimer la différenciation des muscles squelettiques en modifiant la localisation sub-nucléaire de MEF2, bien que le mécanisme d'interaction exact demeure mal compris (Lazaro, Bailey, and Lassar 2002; Di Giorgio et al. 2015).

## 2. Promotion de la différenciation cellulaire par les CKI

De même que les CDK, facteurs favorisant le cycle, semblent posséder un rôle inhibiteur dans le processus de différenciation, il semble que les CKI, facteurs pro-quiescence, favorisent par leur action le processus de différenciation cellulaire. En tant qu'antagonistes des CDK, les CKI sont capables d'interférer avec les mécanismes décrits précédemment, mais semblent également jouer un rôle favorisant la différenciation indépendamment de l'inhibition des couples CDK-CCN. Ainsi, la protéine p57<sup>Kip2</sup> est capable de promouvoir la différenciation musculaire squelettique à la fois en inhibant l'activité du complexe CDK2-CCNE responsable de la phosphorylation de MyoD (Reynaud et al. 1999), ce qui favorise sa dégradation, mais également en fixant et stabilisant directement le facteur de transcription MyoD (Reynaud et al. 2000). De même, p21<sup>cip</sup> et p27<sup>Kip1</sup> sont impliqués dans des processus de différenciation cellulaire de façon indépendante de leur action respective sur le cycle cellulaire. Ainsi, p21<sup>cip</sup> est nécessaire à la différenciation des oligodendrocytes chez la souris (Zezula et al. 2001), tandis que, la partie N-terminale de la protéine p27<sup>Kip1</sup> est nécessaire à la différenciation de plusieurs types cellulaire chez le Xénope (Hardwick and Philpott 2014), en permettant de stabiliser les facteurs de transcription, MyoD et NGN2, respectivement au cours de la myogenèse (Vernon and Philpott 2003) et de la neurogenèse (Vernon, Devine, and Philpott 2003). L'importance de p27<sup>Kip1</sup> au cours de la neurogenèse est conservée chez la souris à la fois grâce au rôle stabilisateur de la région N-terminale de p27<sup>Kip1</sup> sur NGN2 mais également via une promotion de la migration neuronale par l'inhibition de la voie RhoA, liée à la partie C-Terminale de p27<sup>Kip1</sup> (Nguyen et al. 2006).



### 3. Inhibition du cycle cellulaire par les facteurs de différenciation

Nous avons vu comment les acteurs du cycle peuvent inhiber ou promouvoir le processus de différenciation mais, réciproquement, les facteurs de différenciation peuvent agir en tant qu'inhibiteurs du cycle. Ainsi, de nombreux facteurs de transcription sont connus pour réguler l'expression des effecteurs du cycle au sein de différents types cellulaires.

Certains facteurs de différenciation peuvent inhiber le cycle cellulaire en promouvant l'expression des CKI. On peut ainsi citer le principal facteur de différenciation musculaire MyoD, qui favorise la transcription de p21<sup>cip</sup> (Reynaud et al. 1999), par un mécanisme restant à définir, ainsi que la transcription de p57<sup>Kip2</sup> (Reynaud et al. 1999), en se fixant sur un élément cis-régulateur (Busanello et al. 2012), au cours de la formation des muscles ; le facteur de la famille ForkHead, FOXA1 active le promoteur de p27<sup>Kip1</sup> dans des lignées cellulaires issues de cancer du sein et du colon (Williamson et al. 2006). De même, plusieurs facteurs de transcription possédant un domaine de fixation à doigt de zinc « *Zinc-finger transcription factor* » de la famille des facteurs GATA, sont des régulateurs connus du cycle cellulaire. La famille des facteurs GATA est composée de 6 paralogues chez l'Homme de GATA1 à GATA6, la plupart étant impliqués dans la régulation du cycle cellulaire via l'activation des promoteurs de divers CKI. Ainsi, au cours de la différenciation des érythroïdes, le facteur de différenciation GATA1 et le facteur EKLF1 agissent de concert pour activer le promoteur de p21<sup>cip</sup> et favoriser la différenciation terminale des érythrocytes (Papetti et al. 2010; Siatecka et al. 2010). Le facteur GATA3 maintient la quiescence des cellules supportrices de la cochlée en interagissant directement avec le promoteur de p27<sup>Kip1</sup> (Xu et al. 2021), tandis que GATA4 régule la prolifération des astrocytes en activant la transcription de p15<sup>INK4B</sup> (Agnihotri et al. 2009). Enfin, GATA2 régule quant à lui la prolifération des précurseurs neuronaux (El Wakil et al. 2006) au travers d'un mécanisme qui reste à éclaircir.

Les facteurs de différenciation peuvent également inhiber le cycle cellulaire en réduisant l'expression des cyclines. C'est notamment le cas de NGN2, qui promeut la sortie du cycle cellulaire des précurseurs neuronaux au cours de formation de la moelle épinière chez le poulet. Dans ce contexte, NGN2 réduit l'expression des cyclines liées aux phases G1 et S tels que CCND1, CCNE1/2 et CCNA2, probablement de façon indirecte, tel qu'illustré dans l'étude de (Lacomme et al. 2012).

#### 4. Rôle du remodelage de la chromatine induit par la différenciation dans la régulation du cycle cellulaire

Au cours de la différenciation, la modification du transcriptome est médiée par l'action des facteurs de différenciation sur les promoteurs de leurs gènes cibles mais est également soutenue par la modification du niveau de compaction de la chromatine qui modifie l'accessibilité de certains gènes. Ces remodelages du paysage épigénétique s'avèrent essentiels au maintien à long terme des modifications du cycle cellulaire spécifique à une lignée cellulaire ainsi qu'à la différenciation terminale. Plusieurs complexes de remodelage de la chromatine sont impliqués dans ce processus de régulation.

##### a) *Les complexes Polycomb et Trithorax*

Les protéines du groupe Polycomb (PcG) et leurs antagonistes du groupe Trithorax (TrxG) sont des acteurs clé du contrôle du développement embryonnaire. Ils sont impliqués dans la détermination du destin cellulaire, la régulation du cycle cellulaire ainsi que dans le processus de différenciation terminale et le maintien des cellules-souches (Schuettengruber et al. 2007; 2011; Laugesen and Helin 2014). Initialement découverts chez la drosophile *Drosophila melanogaster* (Slifer 1942; Kassis, Kennison, and Tamkun 2017) pour leur rôle dans la régulation des gènes Homéobox (HOX), ils sont largement conservés chez une grande variété d'organismes, notamment chez *C. elegans*.

Les protéines PcG forment de larges complexes protéiques dont les plus connus sont les complexes PCR1 et 2 ou « *Polycomb repressor complex 1/2* » respectivement responsables de l'ubiquitinylation des histones H2 et de la méthylation des histones H3 sur la lysine 27 (H3K27) (Müller et al. 2002). En augmentant la compaction de la chromatine, les complexes PCR réduisent l'accessibilité des gènes, réduisant ainsi leur transcription.

Les protéines TrxG agissent principalement en maintenant la chromatine dans un état actif (Schuettengruber et al. 2011). En cela, elles se comportent comme des antagonistes des PcG, en s'opposant à la répression transcriptionnelle induite par les protéines PcG. Les protéines TrxG agissent notamment en acétylant ou triméthylant les histones H3 sur la lysine 4 (H3K4me3) (Lim et al. 2009). D'autres membres du groupe des TrxG forment des complexes de remodelage de la chromatine dépendant de l'ATP tels que le complexe SWI/SNF (Chervitz et al. 1998).

Ainsi, les complexes PcG agissent comme des répresseurs des gènes de différenciation et tendent à maintenir un cycle cellulaire actif, tel que décrit dans la neurogenèse et la myogenèse chez la souris. À l'opposé, les complexes TrxG tendent à promouvoir l'expression des gènes de différenciation et à réprimer le cycle cellulaire.

#### *b) Rôle du complexe SWI/SNF dans la régulation du cycle cellulaire*

Le complexe SWI/SNF ou « *switching/sucrose non-fermenting* » est une sous-classe de complexe protéique appartenant au groupe des TrxG. Il s'agit d'un complexe de remodelage de la chromatine dépendant de l'ATP, qui est constitué de plusieurs sous-unités. Le cœur du complexe est constitué autour de la sous-unité ATPase Brahma (BRM), qui possède un paralogue chez les mammifères BRG1 ou « *BRM-related Gene 1* ». Autour du cœur constitué soit par BRM soit par BRG1, les autres protéines sont regroupées sous le nom de BAF « *BRM/BRG1-associated factors* », le complexe catalytique étant constitué de BRM/BRG1

associé à BAF155, BAF177 et SNF5 aussi appelé BAF47. En plus des protéines du complexe catalytique, on retrouve des protéines associées, dont deux protéines signature BAF250 et PBRM qui permettent de distinguer deux sous-classes de complexe SWI/SNF, respectivement nommées SWI/SNF BAF et PBAF. D'autres sous-unités pouvant être présentes dans le complexe se caractérisent par leur expression lignage spécifique ou dépendante d'un stade de développement précis. C'est notamment le cas des sous-unités BAF45a et BAF53a caractéristiques des précurseurs neuronaux et qui sont remplacées par BAF45b/c et BAF53b suite à la différenciation terminale des neurones chez la souris (Lessard et al. 2007). On peut également noter les 3 gènes paralogues BAF60A, B et C ; ce dernier est le seul exprimé dans les précurseurs des cardiomyocytes mésodermiques et les myoblastes. Il interagit avec GATA4 et MyoD pour permettre la différenciation terminale des cellules musculaires cardiaques et squelettiques.

Concernant le contrôle du cycle cellulaire par le complexe SWI/SNF, ce dernier semble induire l'expression des CKI p16<sup>INK4A</sup>, p15<sup>INK4B</sup> et p21<sup>Cip</sup> dans les cellules tumorales rhabdoïdes malignes (Kia et al. 2008; B. G. Wilson et al. 2010; Kuwahara et al. 2010; 2013). Le complexe SWI/SNF joue également un rôle sur le contrôle de l'arrêt du cycle cellulaire au cours de la différenciation musculaire chez *C. elegans*. Dans ce contexte, il semble agir conjointement avec *hlh-1*, l'orthologue de MyoD chez *C. elegans*, d'une part pour lever les répressions transcriptionnelles induites par le complexe PcG sur les gènes spécifiques des muscles, tels que *myo-3*, et d'autre part pour supprimer l'expression de la *cye-1*, orthologue de CCNE chez *C. elegans*, afin d'arrêter le cycle cellulaire (Ruijtenberg and Van Den Heuvel 2015). Enfin, toujours chez *C. elegans*, la mutation perte de fonction du gène *ham-3*, orthologue des sous-unités accessoires BAF60, phénotype la mutation perte de fonction du gène *cki-1*, l'orthologue de p27<sup>Kip2</sup> chez *C. elegans*. En effet, dans les deux cas, on assiste à un quasi-doublement du nombre de noyaux intestinaux lié à un défaut d'arrêt du cycle cellulaire des cellules intestinales

(Ertl et al. 2016). Ainsi, il semble que le complexe SWI/SNF est un complexe de remodelage de la chromatine essentiel à l'arrêt du cycle dans un certain nombre de systèmes différents.

Chez *C. elegans*, le complexe SWI/SNF semble également jouer un rôle majeur dans l'allongement du cycle cellulaire chez les descendants de la lignée du blastomère E, dont est issue la lignée intestinale. En effet, l'inhibition précoce de la protéine putative SFNC/SWSN-5 du complexe SWI/SNF induit l'accélération du cycle cellulaire dans les cellules filles du blastomère E, Ea et Ep ainsi que des défauts d'ingression intestinale (Krüger et al. 2015).

### *c) Autres complexes de remodelage de la chromatine reliant la différenciation cellulaire et le cycle cellulaire*

Il existe d'autres complexes de remodelage de la chromatine connus pour réguler aussi bien la différenciation que le cycle cellulaire, mais que je ne traiterai pas en détails dans ce travail. Il s'agit notamment du remodelage de la chromatine dépendant de la protéine RB (Nielsen et al. 2001; Ruijtenberg and van den Heuvel 2016), ainsi que du complexe DREAM/MuvB (Fischer and Müller 2017; Ruijtenberg and van den Heuvel 2016).

## **5. Rôle de la kinase DYRK1 dans la coordination entre prolifération et différenciation**

Le couplage antagoniste entre la prolifération cellulaire et la différenciation cellulaire peut également être coordonné de manière indirecte par la Kinase Mnb/Dyrk1a au cours de la différenciation des neurones de la moelle épinière du poulet et du télencéphale de la souris. Dans ces deux systèmes il a été mis en évidence que l'expression de la kinase Mnb/Dyrk1a couple la sortie du cycle cellulaire via l'augmentation de la transcription de la CKI, p27<sup>Kip1</sup> et l'initiation de la différenciation neuronale par la suppression de l'inhibition latérale induite par la voie de signalisation Notch (Hämmerle et al. 2011).

## B. Des relations plus complexes qu'un simple antagonisme

Les nombreux contextes développementaux et mécanismes moléculaires décrits ci-dessus confirment l'existence d'un couplage antagoniste entre la prolifération et la différenciation cellulaire. Dans cette partie, nous allons cependant voir que, dans certains contextes, les relations entre le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire s'avèrent plus complexes que ce simple antagonisme.

### 1. Un antagonisme dépendant du contexte

Le couplage de la différenciation et du cycle cellulaire au cours d'une étape du développement n'implique pas que ce couplage soit maintenu lors des étapes plus tardives. En effet, au cours du développement du tube neural chez l'embryon de poulet, la signalisation « *fibroblast growth factor* » (FGF) maintient l'expression de la cycline D2 dans l'épithélium neural caudal immature, tandis que la voie « *Sonic hedge Hog* » (Shh) active la cycline D1 dans la gouttière neurale. Or l'expression forcée de ces cyclines, montre qu'elles sont capables d'inhiber la différenciation neuronale dans leur zone d'expression dans le tube neural jeune (Lobjois et al. 2004). Or, au sein du même tissu, mais à un stade de développement plus tardif ; l'expression forcée des cyclines D1 et D2, n'est pas capable d'inhiber la différenciation des motoneurones. Ainsi dans ce contexte, les précurseurs des motoneurones migrent et se différencient indépendamment de leur état de prolifération dans un tube neural plus mature (Lobjois et al. 2008).

De même le rôle de facteur de transcription à homéodomaine Prospero au cours de la différenciation des neuroblastes de type I chez la drosophile (Maurange, Cheng, and Gould 2008) fournit un exemple intéressant de transition d'une régulation agoniste vers une régulation antagoniste. Les neuroblastes de type 1 peuvent se différencier soit en neurone soit en cellule gliale en passant par un intermédiaire appelé cellule mère gliale (GMC). Ce précurseur est capable de se diviser une seule et unique fois pour engendrer 2 neurones post-mitotiques ou

bien 2 cellules gliales. L'engagement dans le destin glial ou neuronal dépend de la séquestration corticale de facteur de transcription à homéodomaine Prospero. En effet, ce dernier est séquestré asymétriquement au niveau cortical par la protéine Miranda. En fonction d'une horloge moléculaire, Prospero est asymétriquement réparti lors de la division asymétrique des neuroblastes de type 1. Lorsque la GMC produite est dépourvue de Prospero, elle se divisera pour donner deux cellules gliales. Tandis que, lorsque la cellule GMC contient Prospero, le facteur de transcription est ségrégué dans son noyau et induit la différenciation neuronale en activant les gènes de différenciation et en régulant le potentiel de division de GMC et de ses cellules filles (Mar et al. 2022). En effet, la localisation nucléaire de Prospero induit une augmentation de l'expression de la cycline E au sein de la GMC, ce qui lui permet de se diviser une fois ; puis Prospero induit la régulation à la baisse de la cycline E dans les neurones issus de GMC. Bien que les mécanismes exacts restent à déterminer, ce processus participe à la différenciation terminale des neurones produits.

## 2. Importance du découplage dans le maintien de l'homéostasie épithéliale

Ainsi, nous avons vu que les relations entre le cycle cellulaire et la différenciation sont de nature plus complexe qu'une simple corrélation négative et qu'un découplage peut exister entre ces deux processus. Ce découplage joue un rôle dans certains processus développementaux mais peut également être important pour l'homéostasie de certains tissus. Ainsi, dans un tissu à forte capacité régénérative tel que l'épiderme de souris, la différenciation lente et progressive des cellules épithéliales est accompagnée d'un maintien des capacités prolifératives permettant la production de cellules filles au destin cellulaire déterminé à partir d'une cellule mère déjà engagée dans le processus de différenciation (Cockburn et al. 2022).

### 3. Promotion de la différenciation cellulaire par les cyclines

Bien qu'elles soient l'un des constituants majeurs des complexes cycline/CDK, et donc des acteurs majeurs de la prolifération cellulaire, il semble que les cyclines puissent également jouer un rôle pro-différenciation dans certains contextes développementaux particuliers. En effet, au cours de la neurogenèse prenant place durant la formation de la moelle épinière chez le poulet, la cycline D1 promeut la différenciation neuronale des précurseurs des motoneurones par un mécanisme dépendant du facteur de transcription HES6 et indépendant de son action sur le cycle cellulaire (Lukaszewicza and Anderson 2011).

De même, chez la drosophile le neuroblaste de type II, NB6-4 thoracique, se divise asymétriquement pour donner un neuroblaste et une cellule précurseur gliale (Berger et al. 2010). L'engagement dans le destin glial ou neuronal dépend de la séquestration corticale du facteur de transcription à homéodomaine Prospero. Ce dernier est séquestré asymétriquement au niveau cortical par la protéine Miranda et hériter par la cellule précurseur gliale. Or, il a été montré que la ségrégation corticale de Prospero dans le neuroblaste NB6-4 est dépendante de la cycline E. En effet, dans ce contexte, la cycline E est nécessaire à l'expression de la protéine Miranda et ce de façon indépendante de son action sur le cycle cellulaire.

### 4. Rôle de la longueur des phases du cycle cellulaire dans le processus de différenciation

Il existe également d'autres types d'interactions entre la régulation du cycle cellulaire et la différenciation, ne relevant pas directement du couplage antagoniste. On peut notamment citer l'influence de la longueur de certaines phases du cycle cellulaire sur l'engagement des cellules souches dans un destin cellulaire particulier. Ce type de régulation joue notamment un rôle majeur au sein du système hématopoïétique, dans l'engagement des progéniteurs vers certains lignages spécifiques. Par exemple, chez les progéniteurs érythroïdes, la transition de l'auto-renouvellement à la différenciation terminale érythroïde est dépendante du



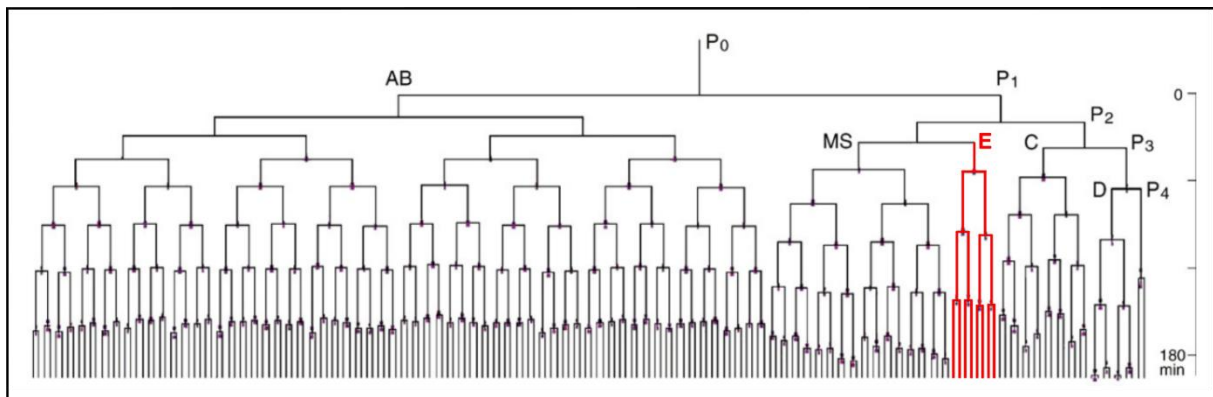
raccourcissement de la phase S (Pop et al. 2010). Dans ce contexte la phase S est raccourcie grâce à la diminution de l'inhibition des CDK médiée par p57<sup>KIP2</sup> et à l'augmentation de la vitesse de la fourche de réplication (Hwang et al. 2017).

On peut également citer l'importance de la longueur de la phase G1 dans la transition entre l'autorenouveau des cellules souches neurales adultes (NSC) et leur différenciation. La littérature actuelle montre que l'engagement des cellules souches neurales adultes dans le processus de différenciation neuronale est la conséquence d'un allongement de la phase G1 du cycle cellulaire (Arai et al. 2011). Il a été proposé qu'en condition de prolifération rapide des NSC, la phase G1 est associée à une forte activité de couples CCN/CDK, permettant la phosphorylation du facteur de transcription pro-neuronal, NGN2. Lorsque NGN2 est phosphorylé sa capacité à se lier au promoteur des gènes pro-neuronaux est inhibée induisant par conséquent l'inhibition de la différenciation neuronale. L'allongement de la phase G1 étant associé à une réduction de l'activité des couples CCN/CDK, NGN2 n'est plus phosphorylé dans ces conditions et peut donc initier la différenciation neuronale (Ali et al. 2011).

Ainsi nous avons vu que la question des relations entre prolifération et différenciation cellulaire recouvrait une réalité plus complexe qu'un simple couplage antagonique. De ce fait ces interactions doivent être questionnées dans le cadre spécifique d'un contexte développemental précis.

## IV. L'organogenèse intestinale chez *C. elegans*

Dans les premières parties de cette introduction, j'ai présenté les fondamentaux sous-tendant la régulation du cycle cellulaire, de la différenciation ainsi que les interactions connues entre ces deux programmes cellulaires majeurs. Dans cette dernière partie, je présenterai le modèle d'étude *C. elegans* et plus spécifiquement les différentes étapes de l'organogenèse intestinale chez cet organisme.



**Figure 8** Lignage cellulaire chez *Cænorhabditis elegans* : La lignée intestinale est en rouge. Modifiée à partir de (Bao et al. 2008).

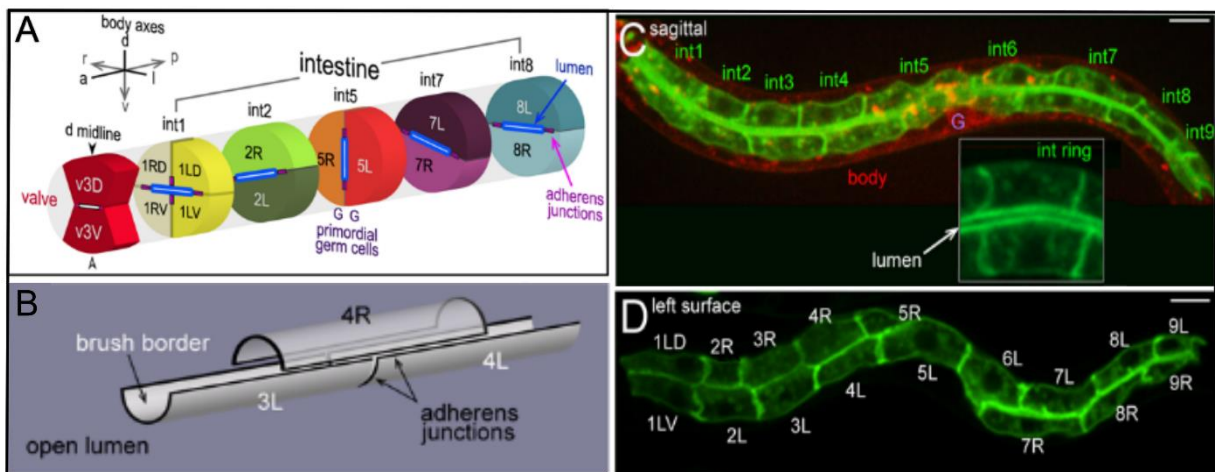
## A. *C. elegans* en tant que modèle

Le nématode libre *Caenorhabditis elegans* est un invertébré de la famille des Rhabditidae, mesurant environ 1 mm de longueur, il vit dans le sol où il se nourrit principalement de bactéries. *C. elegans* possède 5 paires d'autosomes et un seul type de gonosome, le chromosome X, dont le nombre spécifie le sexe de l'individu : une paire de chromosome X pour les hermaphrodites et un unique chromosome X pour les mâles. Les hermaphrodites constituent 99,9% de la population et les mâles, obtenus grâce à de rares événements de non-disjonction méiotique du chromosome X, 0,1% de la population, *C. elegans* a été établi en tant qu'organisme modèle en biologie par Sydney Brenner dans les années 1960-70 (Brenner 1973) du fait des nombreux avantages que présente cette espèce, tels que sa petite taille, sa transparence et son cycle de vie rapide de 3,5 jours à 20°C. La température de culture est en effet un paramètre important puisque *C. elegans* est un organisme poikilothermique, c'est-à-dire que son métabolisme, sa vitesse de développement et la longueur de son cycle de vie, sont influencés par la température de son milieu (Mendenhall et al. 2017). Depuis les années 70, *C. elegans* s'est imposé comme un organisme de référence ; il est le premier organisme multicellulaire dont le génome a été complètement séquencé (The *C. elegans* Sequencing Consortium 1998) et il est un modèle de référence en ce qui concerne l'étude du développement embryonnaire. Dans ce domaine, *C. elegans* présente un développement embryonnaire caractéristique du mode de spécification autonome, où chaque lignée cellulaire invariante et stéréotypée a pu être précisément décrite (**Fig. 8** ; (Sulston et al. 1983)). La lignée cellulaire intestinale est l'une des lignées phare des études du développement chez *C. elegans*, notamment en ce qui concerne la mise en place de la polarité épithéliale (**Fig. 8**). Elle semble également représenter un bon modèle pour l'étude des interactions entre le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire du fait de l'apparente coordination de ces deux processus au cours de l'organogenèse intestinale ainsi que des données présentes dans la littérature.

## B. Morphogenèse intestinale chez *C. elegans*

### 1. Aperçu général de l'intestin chez *C. elegans*

Chez *C. elegans*, l'intestin est un tube constitué de 20 cellules organisées en 9 anneaux successifs de 2 ou 4 cellules s'enchaînant le long d'un axe antéro-postérieur (**Fig. 9A, C, D**). Le premier anneau est le plus antérieur et est le seul à être composé de 4 cellules (**Fig. 9A** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)); il est connecté sur sa face antérieure au pharynx par l'intermédiaire de la valve pharyngale (**Fig. 9A**). Les 8 anneaux suivants sont, quant à eux, composés de deux cellules (**Fig. 9A**). Chez l'hermaphrodite, la gonade est directement connectée à l'anneau 5 (**Fig. 9A** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). Le dernier anneau est le plus postérieur et est connecté sur sa face postérieure au rectum par l'intermédiaire de la valve rectale (**Fig. 9A** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)).



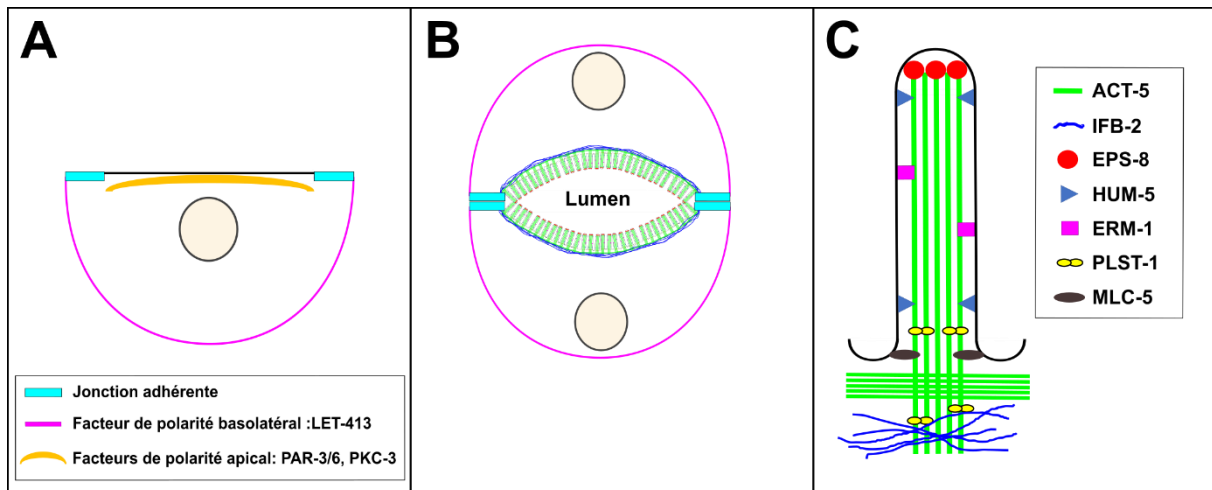
**Figure 9 Structure post-embryonnaire de l'intestine de *C. elegans*** : **A**, Schéma des neuf anneaux intestinaux, désignés par le terme "int" et numérotés le long de l'axe antéro-postérieur. Le premier anneau, int1, se compose de quatre entérocytes, tandis que les autres anneaux ne contiennent que deux entérocytes chacun. Dans le coin supérieur gauche, des flèches sont utilisées pour indiquer les différents axes du corps du nématode. **B**, Modèle de chevauchement des anneaux intestinaux. **C**, Images de larves nouvellement écloses exprimant des marqueurs transgéniques pour les cellules intestinales (en vert) et pour toutes les membranes (en rouge). L'encart montre un zoom sur la lumière intestinale à l'échelle d'un seul anneau. **D**, Images de larves nouvellement écloses exprimant des marqueurs transgéniques pour les cellules intestinales (en vert), montrant chacune des cellules de l'intestin. Les barres d'échelles représentent 5  $\mu$ m. Issue de (Asan, Raiders, and Priess 2016) respectivement Fig1A, 1H, 1C,1D.

L'intestin est un épithélium polarisé, ses 20 entérocytes possèdent un pôle basal orienté vers l'extérieur de l'intestin et constituant la face externe du tube intestinal et un pôle apical, orienté vers l'intérieur de l'intestin et constituant la face interne du tube intestinal (**Fig. 9B-D & 10B**). Au sein d'un anneau, les cellules adhèrent l'une à l'autre par des jonctions adhérentes situées sur la périphérie de leur membrane apicale, qui se font face autour d'une lumière centrale appelé « lumière intestinale » ou « lumen » avec un décalage dans le sens antéro postérieur (**Fig. 9B-D & 10B** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). Ce décalage permet à chaque anneau de se chevaucher, les cellules d'un anneau adhérant également aux cellules des anneaux suivant et précédent, assurant la continuité du lumen. La membrane apicale des entérocytes présente une bordure en brosse constituée de microvillosités (**Fig. 10B** ;(Leung, Hermann, and Priess 1999) ), des prolongements membranaires augmentant la surface d'échange entre l'entérocyte et le lumen. En plus de la bordure en brosse, les entérocytes sont caractérisés par la présence en position basale d'organelles particuliers apparentés aux lysosomes et appelés « gut granules » (Eaton and Martin-Belmonte 2014) ainsi que par l'expression d'autres marqueurs de différenciation, notamment d'enzymes digestives telles que GES-1 et de transporteurs permettant l'absorption des nutriments tels que les transporteurs de peptides PEPT-1 et PEPT-2 (Fukushige 1998; Fukushige et al. 1999; Sommermann et al. 2010; Dineen et al. 2018).

## 2. La polarité des entérocytes

Comme je l'ai mentionné précédemment, l'intestin est un tissu épithélial, constitué de cellules polarisées, les entérocytes. La polarisation est une organisation structurelle asymétrique de la cellule, formant deux pôles présentant des constituants et des fonctions différentes. Chez les entérocytes se met en place une polarisation selon l'axe apico-basal, avec un pôle apical faisant face à la lumière intestinale et caractérisé par le complexe PAR-3, PAR-6, PKC-3/aPKC (**Fig. 10A-B**). Les protéines PAR-3 et PAR-6, « *PARTitioning-defective* », sont des protéines d'échafaudage et PKC-3 une Sérine/Thréonine kinase associée à la membrane apicale via son interaction directe avec PAR-6 (M. I. Wilson et al. 2003; Hirano et al. 2005). Le pôle apical est

délimité par les jonctions apicales et permet la formation de la structure caractéristique des entérocytes, la bordure en brosse (**Fig. 10A-B**), ainsi que la localisation des transporteurs permettant la fonction d'absorption des entérocytes. Le pôle basolatéral est quant à lui défini par l'expression de LET-413 (**Fig. 10A-B**)(Bossinger et al. 2004). Certains organites tels que les « gut granules » se localisent en position basale (Eaton and Martin-Belmonte 2014).



**Figure 10 Polarité apico-basale des entérocytes et microvillosités** : **A & B**, Représentation d'un entérocyte polarisé et d'un anneau constitué de deux entérocytes présentant une bordure en brosse apicale. La polarité se caractérise par une organisation asymétrique formant des pôles apicaux et basolatéraux distincts. Le pôle apical est orienté vers la lumière intestinale et défini par des protéines telles que PAR-3, PAR-6 et PKC-3 (jaune). Dans les entérocytes différenciés, il présente une bordure en brosse constituée de microvillosités. Le pôle apical est délimité par les jonctions adhérentes (cyan) qui permettent aux deux entérocytes d'un même anneau d'adhérer l'un à l'autre. Le pôle basolatéral est quant à lui défini par l'expression de LET-413. **C**, Représentation d'une microvillosité intestinale chez *C. elegans*, constituée de faisceaux de filaments d'actine-5 (ACT-5). On trouve aussi diverses protéines associées à l'actine, telles que EPS-8 et PLST-1, localisées respectivement à la pointe ou à la base des microvillosités. EPS-8 coiffe les microfilaments d'actine et participe au contrôle de la longueur des microvillosités, tandis que PLST-1 assure la cohésion du faisceau et fixe les racines des filaments d'actine au réseau terminal. ERM-1, MLC-5 et HUM-5 assurent la liaison entre les filaments d'actine et la membrane plasmique apicale. Sous les microvillosités intestinales se trouve un réseau terminal composé de filaments d'actine et de filaments intermédiaires, notamment IFB-2.

### 3. Structure des microvillosités intestinales

Les microvillosités sont des ultrastructures spécialisées, mesurant 1  $\mu\text{m}$  de long chez *C. elegans* et constituant la structure fonctionnelle des entérocytes, la bordure en brosse (Leung, Hermann, and Priess 1999; Totong, Achilleos, and Nance 2007). La bordure en brosse permet d'augmenter la surface de contact entre les entérocytes et le bol alimentaire circulant dans le tube digestif, maximisant ainsi l'absorption des nutriments.

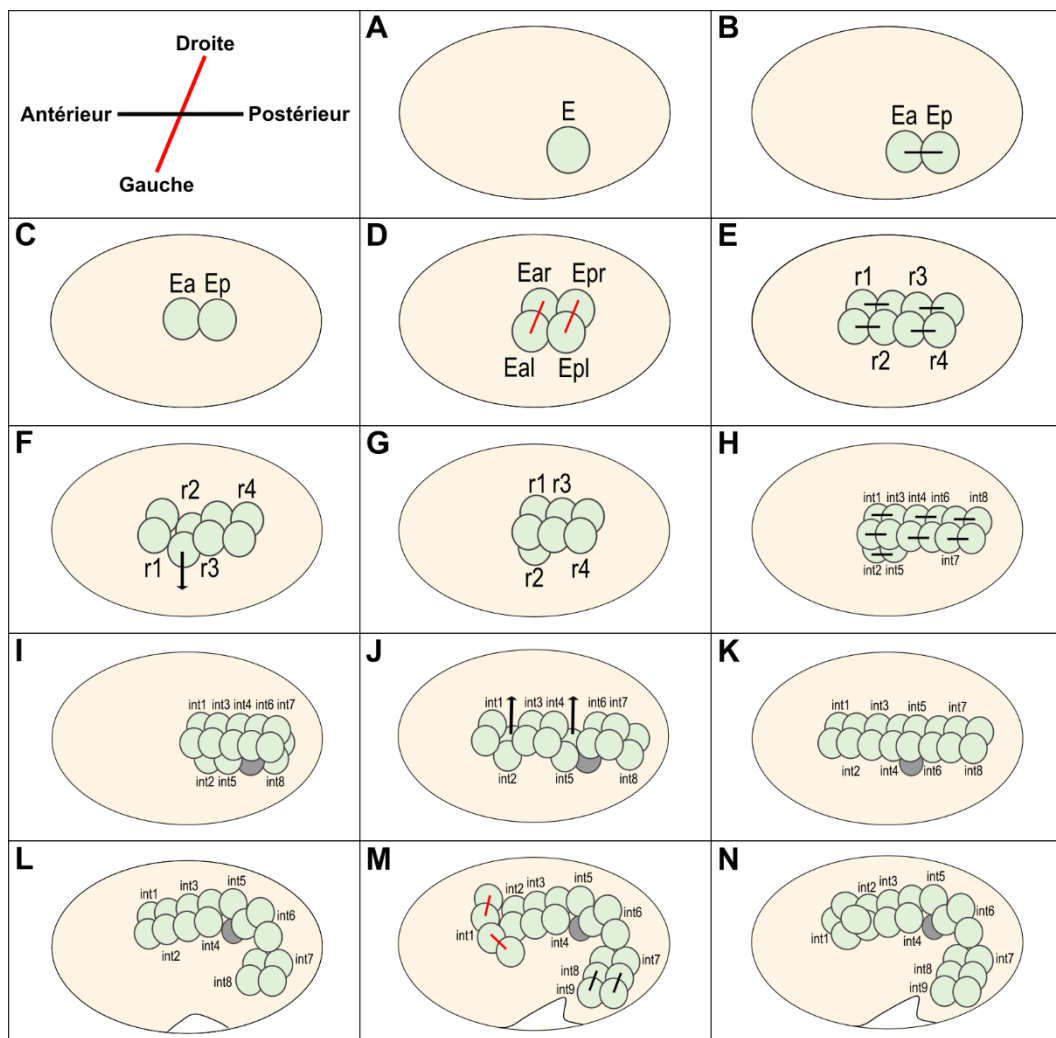
Le squelette des microvillosités est formé de microfilaments de F-actine-5 (ACT-5) une forme de l'actine spécifique des cellules intestinales (**Fig. 10C**). Ces filaments sont organisés en faisceaux de microfilaments parallèles se déployant perpendiculairement à la membrane apicale. Les faisceaux d'actine au sein des microvillosités sont stabilisés par la protéine ERM-1, l'unique représentant de la famille Ezrine/Radixine/Moesine chez *C. elegans*, qui assure la liaison entre la membrane plasmique et le cytosquelette d'actine (**Fig. 10C** ; (Göbel et al. 2004; van Furden et al. 2004)). Au sommet des microvillosités, l'extrémité barbée des microfilaments d'actine est coiffée par la protéine EPS-8, qui participe au contrôle de la longueur des microvillosités (**Fig. 10C**). EPS-8 permet également le regroupement des microfilaments d'actine, assurant ainsi leur stabilité (Croce et al. 2004; Hertzog et al. 2010). La Plastine-1 (PLST-1) permet également le regroupement des microfilaments d'actine à la base des microvillosités, assurant en partie l'ancrage des racines d'actine aux filaments intermédiaires du réseau terminal (**Fig. 10C** ; (Grimm-Günter et al. 2009)). Le réseau terminal est une structure présente au niveau subapical et se déployant de façon transversale par rapport aux microvillosités (**Fig. 10C**). Il est constitué de faisceaux d'actine et de filaments intermédiaires, IFB-2, IFC-1, IFC-2, IFD-1, IFD-2 et IFP-1 (Carberry et al. 2009; Coch and Leube 2016).

#### 4. Description des divisions intestinales

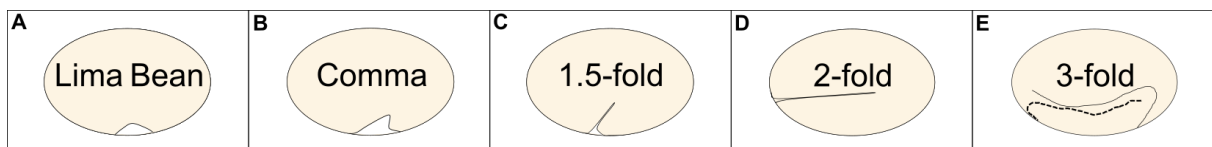
Toutes les cellules intestinales sont issues d'un unique précurseur, le blastomère E qui provient de la division asymétrique de la cellule EMS (Sulston et al. 1983; Leung, Hermann, and Priess 1999) dont nous traiterons en détail dans un paragraphe suivant. Le blastomère E apparaît en position ventrale avant le début de la gastrulation (**Fig. 11A** ; (J.-Y. Lee et al. 2006)), il se divise selon l'axe antéro-postérieur (a/p) pour donner deux cellules filles Ea et Ep (stade appelé E2) (**Fig. 11B**). Les cellules Ea et Ep, toujours situées en position ventrale ingressent vers l'intérieur de l'embryon, initiant la gastrulation (**Fig. 11C** ; (J.-Y. Lee et al. 2006)). Une fois au centre de l'embryon les cellules Ea et Ep se divisent selon un axe droite/gauche (r/l) formant un intestin constitué de 4 cellules Ear, Eal, Epr et Epl, correspondant au stade E4 (**Fig. 11D** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). Au stade E4, les cellules se divisent selon l'axe antéro-postérieur pour former un intestin de 8 cellules, constitué de 4 paires orientées droite/gauche se succédant le long de l'axe antéro-postérieur (**Fig. 11E** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). L'intestin se réorganise alors, la paire de cellules constituant la deuxième rangée antérieure migre en position ventrale et la rangée en première position prend sa place se positionnant au-dessus la rangée 2, qui vient de plonger, et au contact de la troisième rangée antérieure (**Fig. 11F** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). À ce stade, l'intestin est constitué d'une couche de cellules supérieures composée de 3 paires de cellules orientées droite/gauche, que l'on peut nommer rang 1, 3 et 4 selon leur position antéro-postérieure, ainsi que d'une paire, orientée droite/gauche, en position ventrale sous le rang 1 que l'on peut nommer rang 2 (**Fig. 11G** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). Chacune de ses paires subit une division selon l'axe antéro-postérieur pour former un intestin primordial ou « primordium » constitué de 16 cellules (**Fig. 11H**). De ces divisions émergent les 8 premiers anneaux intestinaux, tels que : les cellules de rang 1 donne naissance aux anneaux 1 et 3 ; le rang 2 situé en position ventrale donne naissance aux anneaux 2 et 5 ; le rang 3 donne les anneaux 4 et 6 tandis que le rang 4 donne les anneaux 7 et 8 (**Fig. 11I** ; (Asan, Raiders, and Priess 2016)).



Une fois le primordium constitué, les anneaux 2 et 5 formés en position ventrale, s'intercalent respectivement entre les anneaux 1 et 3 et entre les anneaux 4 et 6 (**Fig. 11J & K**). À 20°C, environ 1h45 après la division formant le primordium, les anneaux 1 et 8 se divisent une ultime fois (**Fig. 11M**; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). L'anneau 1 se divise selon un axe dorso/ventral, formant un anneau de 4 cellules, tandis que l'anneau 8 se divise selon un axe antéro-postérieur, donnant naissance aux anneaux 8 et 9 (**Fig. 11N**; (Asan, Raiders, and Priess 2016)). L'intestin est alors constitué de 20 cellules organisées en 9 anneaux et cesse de se diviser. Dans de rares cas, l'embryogenèse intestinale de *C. elegans* peut produire 21 (Leung, Hermann, and Priess 1999) ou 22 cellules (Sulston and Horvitz 1977), mais le processus de formation de ces cellules surnuméraires n'est pas décrit dans la littérature. Selon (Leung, Hermann, and Priess 1999) ces cellules pourraient venir de l'anneau 5.



**Figure 11 Représentation schématique des divisions intestinales chez *C. elegans*** : Les embryons sont orientés selon les axes indiqués en haut à gauche de la figure. **A**, le blastomère E naît de la division de la cellule EMS en position ventrale avant la gastrulation. **B**, Le blastomère E se divise selon l'axe antéro-postérieur pour former Ea et Ep. **C**, les cellules Ea et Ep, situées en position ventrale, ingressent vers l'intérieur de l'embryon, initiant la gastrulation. **D**, Les cellules Ea et Ep se divisent selon un axe droite/gauche, formant un intestin composé de 4 cellules (Ear, Eal, Epr, Epl). **E**, Les cellules se divisent à nouveau selon l'axe antéro-postérieur pour former un intestin de 8 cellules, organisées en 4 rangs (r) ou paires droite/gauche le long de l'axe antéro-postérieur. **F**, les cellules du rang 2 (r2) plongent en position ventrale. **G**, Les cellules intestinales se réorganisent, formant une couche supérieure composée de 3 paires de cellules orientées droite/gauche et une paire en position ventrale. **H**, chaque paire de cellules subit une division selon l'axe antéro-postérieur pour former un intestin primordial de 16 cellules organisées en 8 anneaux (int). **I**, les cellules sur la couche ventrale correspondant au futur anneau 5 (int5) entrent en contact avec la gonade (gris foncé). **J**, Les cellules paires ventrales s'intercalent respectivement pour former l'anneau 2 (int2) et l'anneau 5 (int5). **K**, les anneaux 2 (int2) et 5 (int5) ont terminé leur intégration. **L**, l'embryon commence à s'allonger stade « lima bean » (voir stades d'élongation figure 12). **M**, les anneaux antérieur (anneau 1 ; int1) et postérieur (anneau 8 ; int8) se divisent respectivement, selon l'axe droite/gauche et selon l'axe antéro-postérieur. L'une des paires issues de la division de l'anneau postérieur (anneau 8 ; int8) forme l'anneau 9 (int9). **N**, l'intestin est alors constitué de 20 cellules organisées en 9 anneaux et cesse de se diviser.



**Figure 12 Stades d'élongation de l'embryon** : **A**, Formation du stade « lima bean » : L'embryon prend une forme incurvée en position ventrale, ressemblant à un haricot. Cela se produit à la fin du stade E16. **B**, Formation du stade « comma » : L'embryon prend une forme de virgule, avec sa queue formant un angle de 90 degrés. **C**, Stade « 1.5-fold » : L'embryon présente un repli pleinement formé par sa queue, qui se positionne à la moitié de sa longueur. **D**, Stade « 2-fold » : L'embryon a complété son premier repli complet, avec la queue positionnée au niveau de la tête. **E**, Stade « 3-fold » : L'embryon forme trois plis sur lui-même. Au stade « 4-fold », l'embryon forme quatre plis sur lui-même (non représenté ici).

## 5. Développement de l'intestin et élongation embryonnaire

Peu avant la fin du stade E16, en parallèle de l'organogenèse intestinale, le processus d'élongation commence ; l'embryon s'incurve en position ventrale et prend une forme caractéristique de haricot, on parle de stade « *lima bean* » (**Fig. 11L & 12A**). L'élongation se poursuit et l'embryon prend une forme de virgule, sa queue formant un angle de 90° et commençant à former un repli de la face ventrale de l'embryon, on parle de stade « comma » (**Fig. 12B**). Le prochain stade notable d'élongation est appelé stade « *1.5-fold* », il correspond à un embryon présentant un repli pleinement formé par la queue de l'embryon, qui se positionne alors à la moitié de la taille totale de l'embryon (**Fig. 12C**). Au stade « *2-fold* », l'embryon a terminé son premier repli complet, la queue de l'embryon se situe au niveau de sa tête (**Fig. 12D**). Les deux derniers stades notables sont les plus tardifs, ils correspondent au stade où l'embryon se replie 2 fois puis 3 fois sur lui-même, formant respectivement 3 plis puis 4 plis, on parle donc de stade « *3-fold* » (**Fig. 12E**) et « *4-fold* ».

La transition E16-E20 ayant lieu lors du développement intestinal coïncide avec le stade d'élongation « *lima bean* » (**Fig. 11L & 15**) tandis que la lumière intestinale commence à se former au stade *lima bean*. La formation de la bordure en brosse débute quant à elle au stade « *2-fold* » et la croissance de microvillosités se poursuit ensuite tout au long des stades « *3-* et « *4-fold* » (Bidaud-Meynard et al. 2021).

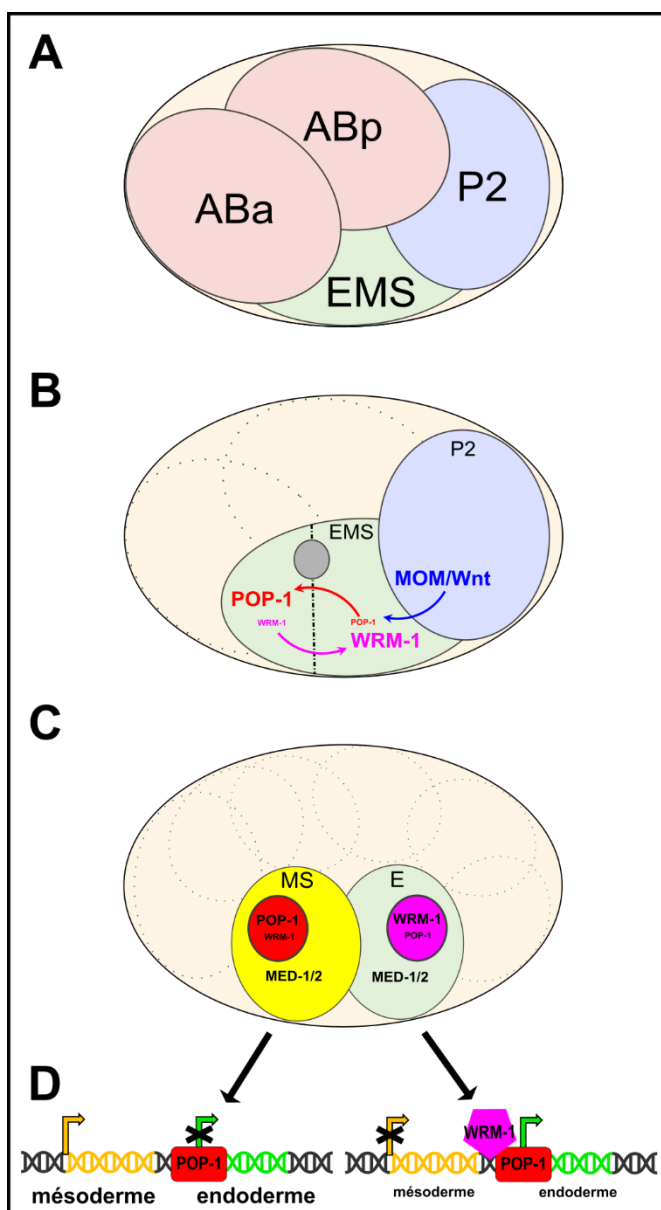
### C. La différenciation intestinale

#### 1. Émergence des lignées endodermique et mésodermique

Le blastomère E à l'origine de l'endoderme est issu de la division asymétrique, au stade embryonnaire 4 cellules, de la cellule EMS, qui donne également naissance à la cellule MS à l'origine du mésoderme. L'asymétrie de cette division est induite par le contact direct entre la cellule P2 et la partie postérieure de la cellule EMS, qui se trouve en position ventrale (**Fig.**

**13A).** Par l'intermédiaire des voies MOM/Wnt (Thorpe et al. 1997; Rocheleau et al. 1997), MAPK (Shin et al. 1999) et Src « *SaRComa* » (Bei et al. 2002), la cellule P2 induit notamment la ségrégation asymétrique du facteur de transcription POP-1/TCF « *POsterior Pharynx defect-1/ T-Cell Factor* », et de l'orthologue de la  $\beta$ -caténine, « *Worm aRMadillo-1* » WRM-1 (**Fig. 13B**). Ainsi, sous l'influence des signaux provenant de la cellule P2, le noyau de la cellule MS se retrouve enrichi en facteur de transcription POP-1 (Thorpe et al. 1997; Rocheleau et al. 1997) avec une faible concentration en WRM-1 (Nakamura et al. 2005) tandis que le blastomère E est enrichi en WRM-1 (Nakamura et al. 2005) et présente une concentration nucléaire faible de POP-1 (**Fig. 13C** ; (Thorpe et al. 1997; Rocheleau et al. 1997)). Or, les facteurs de transcription de la famille des TCF, dont fait partie POP-1, sont connus pour la dualité de leur action sur leurs gènes cibles, activant leur transcription en présence de  $\beta$ -caténine disponible et les réprimant en l'absence de  $\beta$ -caténine (Cadigan and Waterman 2012). Ainsi, la forte concentration en POP-1 associée à la faible concentration en WRM-1 induit la répression des gènes endodermiques dans la cellule MS (Calvo et al. 2001); inversement, la faible concentration de POP-1 et la forte concentration de WRM-1 dans le blastomère E induisent la transcription des gènes endodermiques, POP-1 se fixant notamment aux promoteurs des facteurs de spécification endodermique *end-1* et *end-3* « *ENDoderm determining* » (**Fig. 13C**; Shetty et al. 2005)). Il est intéressant de noter que l'accumulation de WRM-1 dans le blastomère E semble également liée au déclenchement de la mitose et à l'action de CDK1, probablement associé à la cycline B1 ou B3 (CYB-1 et CYB-3). En effet, la libération du pool cortical de WRM-1 est perturbée chez un mutant hypomorphe pour *cdk-1* et les couples CDK1/CYB-1 et CDK-1/CYB-3 sont capables de phosphoryler WRM-1 in-vitro. Ainsi, il est possible que CDK1/CYB phosphoryle le pool de WRM-1 cortical juste avant la mitose, agissant éventuellement comme régulateur spatio-temporel de la localisation de WRM-1 (Kim et al. 2013; Ishidate et al. 2013). La transcription des gènes endodermiques est également tributaire

du facteur de transcription SKN-1 « *SKiNhead-1* », qui est exprimé dans la cellule EMS et induit directement l'expression des facteurs de spécification du mésendoderme MED-1 et MED-2 « *MEsenDoderm* » dans les cellules E et MS (**Fig. 13C** ; Maduro et al. 2001). Les facteurs MED-1 et MED-2 spécifient le destin mésodermique de la cellule MS (Maduro et al. 2001; 2007) ainsi que le destin endodermique du blastomère E en se liant aux promoteurs des facteurs de spécification endodermique *end-1* et *end-3* (Maduro, Lin, and Rothman 2002; Broitman-Maduro, Maduro, and Rothman 2005).



**Figure 13 Représentation schématique de l'émergence des lignées endodermique et mésodermique :** **A**, L'embryon de *C. elegans* au stade 4 cellules embryonnaires. La cellule EMS se situe en position ventrale, tandis que la cellule postérieure P2 est en contact avec la partie postérieure d'EMS. **B**, La cellule P2 induit la division asymétrique d'EMS notamment à travers la voie MOM/Wnt. Ce signal provoque une ségrégation asymétrique des facteurs de transcription POP-1 et WRM-1 dans les noyaux des descendants de EMS au moment de la division. **C-D**, Dans le blastomère E, la faible concentration en POP-1 et la forte concentration en WRM-1 favorisent l'activation des gènes endodermiques tandis que dans MS la faible concentration en WRM-1 et la forte concentration en POP-1, favorisent l'activation des gènes mésodermiques. Les facteurs MED-1/2 participent également à l'activation des gènes mésodermiques chez MS et endodermiques chez le blastomère E.

L'expression de SKN-1 et MED-1 dans les cellules EMS et E requiert l'activité des kinases PAR-4 et PAR-1 qui sont ainsi nécessaires à la différenciation intestinale. Ces deux kinases empêchent par ailleurs l'expression de MED-1 dans le blastomère C, évitant ainsi la production anormale de cellules intestinales par ce blastomère (Demouchy et al. 2024).

## 2. La spécification endodermique

Les facteurs de spécification endodermique END-1 (Zhu et al. 1997; 1998) et END-3 (Maduro et al. 2005) sont des facteurs de transcription de la famille des facteurs à domaine de fixation à doigt de zinc GATA considérés comme les orthologues du gène GATA-4 chez l'Homme. Ils spécifient le destin endodermique du blastomère E. Ainsi, dans un embryon double mutant pour *end-1* et *end-3*, le blastomère E ne produit pas d'endoderme mais adopte un destin typique du blastomère C (formation de muscle et d'épiderme) (Owraghi et al. 2010). La double mutation pour *end-1* et *end-3* induit également une augmentation du nombre de descendants du blastomère E non spécifié (Robertson, Medina, and Lin 2014; Choi, Broitman-Maduro, and Maduro 2017). END-1 et END-3 sont exprimés du stade E au stade E4 (**Fig. 15**), l'expression d'END-3 précédant celle d'END-1 et participant son activation (Maduro et al. 2007). Les cibles de END-1 et END-3 sont redondantes mais ne se recouvrent pas totalement ; ainsi, 100% des embryons mutants uniquement pour *end-1* développent un intestin, contre seulement 95% des mutants *end-3* (Maduro et al. 2005; Owraghi et al. 2010). Parmi leurs cibles se trouvent notamment les promoteurs des gènes de spécification intestinale *elt-2* et *elt-7*.

## 3. La différenciation intestinale

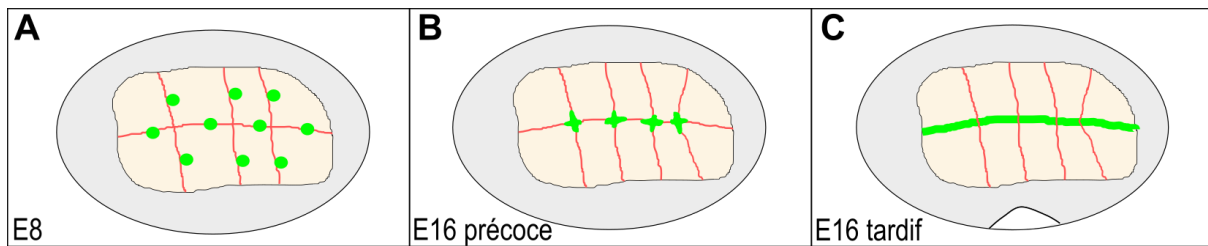
Les facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7 « *Erythroid/Erythrocyte-Like Transcription factor* » s'expriment à partir du stade E2, sous l'influence des facteurs de spécification endodermique END-1 et END-3 (Wiesenfahrt et al. 2015). Tout comme eux, ils appartiennent à la famille des facteurs GATA à domaine de fixation à doigt de zinc et sont considérés comme étant des orthologues de GATA-4 chez l'Homme. Ils déterminent le destin

intestinal des cellules de la lignée du blastomère E à partir du stade E2 (**Fig. 15**) en permettant la transcription des gènes spécifiques de l'intestin, notamment des principaux marqueurs de la différenciation intestinale tels que l'enzyme intestinale GES-1 ou le transporteur de peptide PEPT-1 (Fukushige 1998; Fukushige et al. 1999; Sommermann et al. 2010; Dineen et al. 2018). L'expression ectopique d'ELT-2 (Fukushige 1998; McGhee et al. 2007; 2009) ou d'ELT-7 (Sommermann et al. 2010) suffit à induire le destin intestinal et l'expression des gènes spécifique de l'intestin. De plus, leur expression se maintient tout au long de la vie du nématode. ELT-2 régule la transcription de plus de 80% des gènes spécifiques de l'intestin (McGhee et al. 2009). En conséquence de quoi, les embryons *elt-2 (null)* présentent des défauts majeurs de différenciation intestinale, comme des problèmes d'ouverture de la lumière intestinale, bien que des signes de différenciation persistent (**Fig. S4B** de l'article ci-après ; (Fukushige 1998)). À l'inverse, les mutants *elt-7 (null)* sont viables et ne montrent pas d'anomalies intestinales apparentes. Cette absence de défauts intestinaux chez les mutants *elt-7* ainsi que la persistance de certains aspects de différenciation chez les mutant *elt-2* peuvent être expliquées par la redondance fonctionnelle entre les cibles d'ELT-2 et ELT-7 (McGhee et al. 2009).

#### 4. La polarisation des entérocytes

Le processus de polarisation des entérocytes s'effectue selon un axe apico-basal et débute au stade E8 par la formation de points d'enrichissement corticaux de PAR-3, PAR-6 et PKC-3 qui colocalisent avec des protéines des jonctions telles que l'orthologue de l'E-cadhérine, HMR-1, au niveau des contacts homotypiques entre les cellules E (**Fig. 14A** ; (Naturale, Pickett, and Feldman 2023)). Au début du stade E16, au cours de la longue interphase correspondant à l'introduction de la phase G1 (voir plus bas), les points migrent au niveau des zones de contact entre 4 cellules intestinales et forment des foci au niveau de la ligne médiane séparant les coté droit et gauche de l'intestin (**Fig. 14B**). Au cours de la phase E16, les foci s'étendent de façon subcorticale, le long de la ligne médiane correspondant au futur domaine

apical (**Fig. 10A & 14C**; (Achilleos, Wehman, and Nance 2010; Naturale, Pickett, and Feldman 2023). Les protéines PAR ainsi positionnées au pôle apical permettent de recruter d'autres protéines à la membrane apicale grâce à leurs domaines PDZ ou PB1 qui permettent notamment à PAR-6 de recruter PKC-3 au pôle apical (Li et al. 2010). L'accumulation de LET-413 sous les jonctions permet de définir le pôle basolatéral et la localisation du réseau terminal (**Fig. 10A**; Bossinger et al. 2004). De plus, les cellules subissent une polarisation dite cytoplasmique, au cours de laquelle les centrosomes se positionnent face à la ligne médiane et les microtubules s'organisent selon le futur axe apico-basal. Cette réorganisation des microtubules permet aux noyaux de migrer en direction du pôle apical de s'aligner le long de la ligne médiane ainsi que la migration en position basale de certaines organelles tels que les « gut granules » (Leung, Hermann, and Priess 1999).



**Figure 14 Représentation du processus de polarisation des entérocytes à l'échelle du tissu** : **A**, au stade E8, des points d'enrichissement corticaux (points verts) se forment au niveau des zones de contacts homotypiques entre les cellules E. Ces points d'enrichissement corticaux contiennent les facteurs de polarité tels que PAR-3, PAR-6 et PKC-3. **B**, Au début du stade E16, les points se déplacent vers les zones de contact entre plusieurs cellules intestinales, formant des foci le long de la ligne médiane. **C**, Durant la phase E16, les foci s'étendent de manière subcorticale, définissant ainsi le futur domaine apical. Inspirée du « graphical abstract » de (Naturale, Pickett, and Feldman 2023).

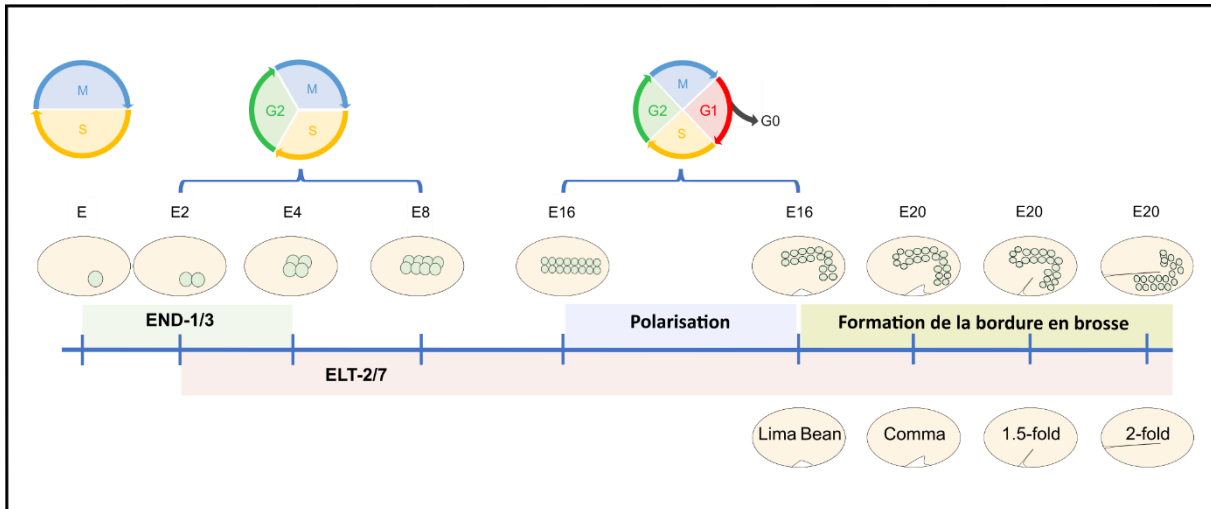


## 5. Formation de la bordure en brosse

La formation de la bordure en brosse commence à la toute fin du stade E16 et au début du stade E20 durant le stade d'élongation « lima bean » avec l'accumulation le long de la membrane apicale des constituants des microvillosités, tels que ACT-5, PLST-1, ERM-1 (**Fig. 10C & 15** ; (Bidaud-Meynard et al. 2021)). En parallèle, le réseau terminal commence à se former via l'accumulation d'IFB-2 en position subapicale (Carberry et al. 2009; Coch and Leube 2016). Au stade d'élongation suivant, le stade « comma », la lumière intestinale commence à s'ouvrir. Puis au stade « 1.5-fold », les microvillosités commencent à s'assembler, des extensions de membrane sont visibles (**Fig. 15**). En parallèle, de nouveaux constituants des microvillosités tels que EPS-8 s'accumulent au pôle apical (Bidaud-Meynard et al. 2021). EPS-8 voit sa localisation se modifier au cours de l'assemblage des microvillosités, passant d'une position subapicale au stade 1.5-fold à une localisation au sommet des microvillosités au stade 2-fold (données non publiées). La maturation et la croissance des microvillosités se poursuivent jusqu'à l'âge adulte (Bidaud-Meynard et al. 2021).

### D. Le cycle cellulaire au cours de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans*

La formation de l'intestin chez *C. elegans* présente une autre spécificité ; en effet, son cycle cellulaire subit diverses modifications. Au cours de l'embryogenèse précoce, les blastomères se divisent d'abord grâce à une succession de phases M et S (**Fig. 15**). Les phases G1 et G2 sont ensuite introduites de façon lignage spécifique en commençant par la lignée intestinale. Ainsi, la phase G2 apparaît pour la première fois au stade E2 dans les cellules Ea et Ep, suite à la première division du blastomère E (**Fig. 15** ; (Edgar and McGhee 1988)). Les phases G0/G1, quant à elles, sont introduites au sein de la lignée intestinale à partir du stade E16 (**Fig. 15** ; (Boxem and van den Heuvel 2001; Adikes et al. 2020), l'apparition de G0/G1 semble être la cause de la longue interphase présente au stade E16.



**Figure 15 Représentation schématique de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans* et des différents événements liés au cycle cellulaire, à la différenciation et à l'élongation, survenant au cours de cette organogenèse** : Au cours de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans*, le blastomère E subit une première série de divisions (voir détails **Fig. 11**), entraînant la formation d'un intestin primordial constitué de 16 cellules. Durant ces divisions, le cycle cellulaire de la lignée E mûrit, passant d'un cycle embryonnaire constitué d'une succession de phases M et S à un cycle constitué de 3 phases, par l'ajout de la phase G2 au stade E2. Au cours de ces divisions, les cellules de la lignée E effectuent leur spécification endodermique par l'intermédiaire de l'expression des facteurs de spécification endodermiques, END-1 et END-3 entre les stades E et E4. Cette spécification est probablement à l'origine de l'introduction de la phase G2 citée précédemment. À partir du stade E2, les facteurs de différenciation intestinale commencent à être exprimés, il s'agit de ELT-2 et ELT-7. La phase G1 du cycle cellulaire est introduite au stade E16 dans le primordium intestinal. Cela entraîne la formation d'un cycle cellulaire entier, qui rallonge la durée de l'interphase en E16. Durant cette longue interphase, la polarisation des cellules se met en place (voir détails **Fig. 10A et Fig. 14B & C**). À la fin du stade E16, les cellules intestinales sont polarisées, l'embryon commence à s'allonger indépendamment de l'organogenèse intestinale et prend la forme caractéristique de « lima bean » (voir détails **Fig. 12A**). L'anneau antérieur (anneau 1) et l'anneau postérieur (anneau 8) se divisent une ultime fois pour produire respectivement : un anneau de 4 cellules en antérieur, et l'anneau 9 en postérieur (voir détail **Fig. 11M & N**). Une fois les premier et dernier anneaux divisés, la formation des microvillosités de la bordure en brosse commence. Ce processus se poursuit jusqu'aux stades post-embryonnaires. En parallèle, l'embryon continue de s'allonger (voir détails **Fig. 12B, C, D & E**).

## 1. Régulation de la phase G2

La kinase WEE-1.1 est exprimée spécifiquement dans la lignée intestinale au stade E2 où elle participe à ralentir le cycle cellulaire en phosphorylant CDK-1 (Robertson, Medina, and Lin 2014). De même, la phosphatase CDC-25.1 s'oppose à WEE-1.1 et favorise la transition G2/M en participant à l'activation de CDK-1, en la déphosphorylant, devenant ainsi un régulateur important du cycle dans la lignée intestinale suite à l'introduction de la phase G2 (Bao et al. 2008). Les embryons possédant la mutation gain de fonction *cdc-25.1* présentent ainsi une accélération des divisions intestinales induisant une division supplémentaire des entérocytes avant le stade E16 aboutissant à la formation d'un primordium contenant 32 cellules (Kostić and Roy 2002; Clucas 2002; Demouchy et al. 2024). La phosphatase CDC-25.2 est également un régulateur important du cycle dans la lignée intestinale ; ainsi, les mutants perte de fonction pour *cdc-25.2* présentent des divisions plus lentes entre E2 et E4 et perdent les dernières divisions intestinales des anneaux 1 et 8 entre E16 et 20 (Nair et al. 2013; Y.-U. Lee et al. 2016).

## 2. Régulation de la phase G1

La perte de fonction de CKI-1, orthologue de p27<sup>Kip1</sup> chez *C. elegans*, n'affecte pas la durée du cycle cellulaire avant le stade E16, mais est à l'origine d'un défaut d'arrêt des divisions en E16, entraînant la division de l'ensemble des entérocytes, et non pas des seuls anneaux antérieur et postérieur, après le stade E16 (Kostić and Roy 2002). Il est à noter que la famille d'inhibiteurs INK4 est absente chez *C. elegans*, renforçant probablement l'importance de CKI-1/P27<sup>Kip1</sup> au cours de la phase G1 (Park and Krause 1999). De même, en accord avec l'introduction tardive de la phase G1, la cycline D1, nommée CYD-1 chez *C. elegans*, est requise uniquement pour la division des anneaux antérieur et postérieur entre E16 et E20 (Boxem and van den Heuvel 2001). Ainsi, cela suggère que CKI-1 et CYD-1 sont des régulateurs majeurs de la phase G1 au cours de l'organogenèse intestinale, CKI-1 réprimant la

progression du cycle dans les cellules des anneaux intérieurs (2 à 7), tandis que CYD-1 favorise la division des anneaux antérieur et postérieur (1 et 8).

## E. Influence de la spécification endodermique sur la prolifération intestinale

### 1. Influence de la spécification endodermique sur le nombre de descendants de E

La spécification endodermique du blastomère E a un impact sur le nombre de divisions au sein de la lignée intestinale. En effet, il a été montré qu'un blastomère E isolé est capable de produire des cystes présentant 16 ou 20 cellules (Leung, Hermann, and Priess 1999). Ainsi, le blastomère E semble capable de contrôler le nombre de cellules intestinales de façon autonome cellulaire. De plus, c'est bien la spécification endodermique et/ou la différenciation intestinale qu'elle implique qui régulent le nombre de descendants du lignage E. En effet, un défaut de spécification du blastomère E par la voie MOM/Wnt induit une augmentation du nombre de descendants du blastomère E (Robertson, Medina, and Lin 2014). De la même manière, la déstabilisation du réseau de gènes sous-tendant la spécification endodermique induit une augmentation du nombre de descendants de E. L'augmentation du nombre de descendants de E est d'autant plus grande que le processus de spécification est affecté (Choi, Broitman-Maduro, and Maduro 2017).

### 2. Influence de la spécification endodermique sur la vitesse du cycle dans le lignage E

La spécification endodermique du blastomère E a également un impact sur la vitesse du cycle cellulaire chez les descendants de E. En effet, si la cellule EMS est isolée avant l'induction de la voie MOM/Wnt par P2, le blastomère E non-spécifié qui en émerge donne des descendants qui ne présentent pas l'allongement du cycle spécifique à cette lignée (Goldstein 1992). De plus, c'est sous l'influence de la voie MOM/Wnt qui induit la ségrégation asymétrique de POP-1 et WRM-1, qu'est initiée la transcription de la kinase inhibitrice WEE-1.1/WEE1, participant

à l'allongement du cycle cellulaire chez les descendants du blastomère E (Robertson, Medina, and Lin 2014). Cette expression précoce de WEE-1.1 est à associer à l'introduction lignage spécifique de la phase G2 à partir du stade E2 (Edgar and McGhee 1988; Y.-U. Lee et al. 2016).

## V. Objectifs de la thèse

Dans la troisième partie de ce travail, nous avons présenté certains des mécanismes régulateurs qui sous-tendent l'antagonisme existant entre la prolifération et la différenciation cellulaire. Nous avons également mis en lumière que cette relation était plus complexe qu'un simple couplage antagoniste et qu'elle présentait au contraire une grande complexité d'interactions dépendante du contexte développemental. De ce fait, ces interactions doivent être questionnées au sein d'un contexte développemental précis.

Pour étudier cette relation, le développement embryonnaire bien décrit, stéréotypé et présentant une spécification autonome du nématode *C. elegans* peut s'avérer être un atout. De plus, parmi les différentes lignées cellulaires existantes chez *C. elegans*, la lignée intestinale, issue du blastomère E, présente une coordination apparente entre la prolifération cellulaire et la différenciation au cours de sa formation. Mon projet de thèse visait donc à découvrir si cette apparente coordination au cours de l'organogenèse intestinale était le reflet d'une régulation croisée entre le cycle cellulaire et le processus de différenciation.

Concernant l'influence du cycle cellulaire sur la différenciation intestinale, on sait que la polarisation prend place durant la longue interphase présente au stade E16 suite à l'introduction de la phase G1. De plus, le début de la formation de la bordure en brosse coïncide avec la fin des divisions intestinales. Mon premier objectif de thèse a donc été de mettre en lumière les éventuelles influences du cycle cellulaire sur la régulation de ces deux aspects de la différenciation. Je me suis notamment demandé si un mécanisme comptant le nombre de divisions ou de cellules intestinales pouvait synchroniser la prolifération des cellules

intestinales et l'avancement de leur différenciation. Pour tester cette hypothèse, j'ai observé si la polarisation et la formation de la bordure en brosse étaient prématurées chez des embryons mutants gain-de-fonction pour le gène *cdc-25.1* qui présentent une accélération du cycle cellulaire intestinal précoce (Kostić and Roy 2002; Clucas 2002; Bao et al. 2008; Demouchy et al. 2024). Je me suis également demandé si l'arrêt des divisions intestinales était un prérequis à la formation de la bordure en brosse intestinale. J'ai donc étudié la dynamique du recrutement apical de différents constituants de la bordure en brosse dans un contexte de défaut d'arrêt des divisions intestinales en E16. Pour ce faire, j'ai utilisé une souche génétiquement modifiée qui exprime, spécifiquement dans la lignée intestinale, un système de dégradation inductible à l'auxine, appelé degron. En utilisant ce système, j'ai pu provoquer la dégradation de CKI-1/p27<sup>Kip1</sup> dans l'intestin en cours de développement. En l'absence de ce régulateur majeur du cycle cellulaire, toutes les cellules intestinales subissent une division supplémentaire au stade E16, ce qui conduit à la formation d'un intestin mature hyperplasique composé de 32 cellules (Kostić, Li, and Roy 2003; Fujita, Takeshita, and Sawa 2007).

Concernant l'influence de la différenciation intestinale sur la prolifération, nous savons que la spécification endodermique qui la précède joue très tôt un rôle majeur dans la modification du cycle cellulaire au sein du lignage E. S'il semble évident que certaines caractéristiques du cycle cellulaire au sein du lignage E, notamment l'introduction de la phase G2, sont des conséquences directes de la spécification endodermique, il est plus compliqué de conclure en ce qui concerne les modifications plus tardives telles que l'introduction des phases G0/G1 ou le contrôle différentiel du cycle cellulaire au sein des anneaux antérieur et postérieur (1 et 8) au stade E16. Nous savons que les facteurs de spécification endodermique et de différenciation intestinale appartiennent à la même famille de facteurs de transcription, les facteurs GATA. Tous sont des orthologues chez *C. elegans* du facteur GATA4 chez l'homme. Or, cette famille de facteurs de transcription est connue pour jouer un rôle majeur dans la

régulation du cycle cellulaire au cours de la différenciation dans de nombreux systèmes. De plus, il existe une forte redondance dans les cibles des facteurs de spécification endodermique END-1/3 et des facteurs de différenciation intestinale ELT-2/7. Enfin, on sait que les facteurs de spécification endodermique cessent d'être exprimés autour du stade E4, il est donc raisonnable de penser que si END-1/3 contrôlent les liens précoces entre le cycle cellulaire et le destin intestinal, alors, ELT-2 et ELT-7 pourraient être impliqués dans la régulation plus tardive du cycle cellulaire. Mon second objectif de thèse a donc été d'étudier la possibilité d'une régulation de la prolifération intestinale par les différents aspects du processus de différenciation, notamment les facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7. Grâce à une approche combinant une mutation de perte de fonction pour ELT-7 et une déplétion par interférence ARN de ELT-2, j'ai étudié si l'absence des facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7 modifiait le nombre de divisions intestinales et l'expression des régulateurs du cycle.





## Résultats

Le développement des organismes multicellulaires repose sur des processus fondamentaux tels que la prolifération et la différenciation cellulaires. On considère généralement que l'arrêt du cycle cellulaire et la différenciation terminale sont inversement corrélés, ce qui suggère une coordination entre ces deux processus. Dans l'article suivant, nous avons exploité le modèle stéréotypé de l'organogenèse intestinale du *C. elegans* pour examiner si le contrôle des programmes de prolifération et de différenciation est systématiquement couplé.

DOI : <https://doi.org/10.1101/2024.04.07.588410>

# The proliferation and differentiation programs are only partially coupled during *C. elegans* intestine development

## Authors:

Joris Dieng<sup>1</sup>, Grégoire Michaux<sup>1,\*</sup>, Anne Pacquelet<sup>1,\*</sup>

\* Corresponding authors

## Affiliations :

<sup>1</sup> Univ Rennes, CNRS, IGDR (Institut de Génétique et de Développement de Rennes), UMR 6290, F-35000 Rennes, France

## Contact information:

anne.pacquelet@univ-rennes1.fr

CNRS UMR6290 - IGDR

2 avenue du Professeur Léon Bernard

35043 Rennes Cedex

France

gregoire.michaux@univ-rennes1.fr

CNRS UMR6290 - IGDR

2 avenue du Professeur Léon Bernard

35043 Rennes Cedex

France

## **Abstract**

Cell proliferation and differentiation are essential processes underlying multicellular organism development. Cell proliferation arrest usually precedes terminal differentiation, suggesting that these two processes may be coordinated. Here we took advantage of the very stereotyped development of the *C. elegans* intestine to address whether the control of the proliferation and differentiation programs are systematically coupled. We show that retarding cell cycle arrest leads to a delay in the recruitment of some, but not all, brush border components. Reciprocally, we find that cell cycle arrest relies on the differentiation factors ELT-2 and ELT-7 only in posterior intestinal cells. The occurrence of supernumerary divisions in the absence of ELT-2 and ELT-7 is associated with changes in the expression pattern of the cell cycle regulators CKI-1 and cyclin B1. Our work thus demonstrates the existence of reciprocal interactions between cell proliferation and cell differentiation. It nevertheless also shows that these two processes are only partially coupled, suggesting the existence of additional mechanisms ensuring their temporal control.

## **Introduction**

The development of a single-cell egg into a multicellular organism involves both the generation of a large number of cells through cell proliferation and the acquisition of specialized cell functions through differentiation. Cell proliferation arrest usually precedes terminal differentiation, suggesting the existence of mechanisms that coordinate the two processes. Consistently, several mechanisms through which cell cycle regulators control the activity of differentiation factors have been described. Reciprocally, differentiation factors have been shown to induce the expression cell cycle inhibitors (Ruijtenberg and van den Heuvel, 2016). The inverse correlation between proliferation and differentiation has also led to the common hypothesis that cell cycle exit may be a prerequisite to differentiation. Although this is indeed the case in some instances (e.g. (Willms et al., 2020)), the situation appears to be more complex than anticipated and some examples of uncoupling between cell cycle exit and differentiation have been described (Cockburn et al., 2022; Lobjois et al., 2008;

Martinez et al., 2024). We therefore decided to investigate further how changes in cell proliferation affect differentiation during development and, reciprocally, how differentiation contributes to cell cycle regulation.

To address this question, we took advantage of the extremely stereotyped and well characterized development of the *C. elegans* intestine. This simple intestine is composed of 20 cells, which all derive from a single embryonic precursor cell, the E blastomere. This blastomere undergoes a series of cell divisions that successively give rise to the so-called E2, E4, E8, E16 and E20 intestinal development stages (Fig.S1) (Asan et al., 2016; Leung et al., 1999; Sulston et al., 1983). First, the E blastomere and all its descendants divide four times to produce 16 intestinal cells, which are organized into eight intestinal rings, each being formed by two cells (Fig.S1). Cells from the first and last intestinal rings then divide once more, thereby giving rise to the 20-cell stage intestine, formed by nine intestinal rings, all containing 2 cells, except the first anterior ring which is constituted by 4 cells (Fig.S1) (Asan et al., 2016).

While all early embryonic divisions are characterized by a quick succession of S and M phases, cell cycle length progressively increases in the E lineage from the E2 stage on until it becomes markedly long between the E16 and E20 stage (Leung et al., 1999; Sulston et al., 1983). The initial increase in intestinal cell cycle length is due to the introduction of a G2 phase at the E2 stage while a G1 phase is probably introduced only at the E16 stage (Edgar and McGhee, 1988; Wong et al., 2022). The CDC-25.1 phosphatase, which promotes G2/M transition through the activation of the cyclin dependent kinase CDK-1, has been shown to be required for intestinal divisions and embryos carrying *cdc-25.1* gain-of-function mutations present an acceleration of intestinal divisions (Bao et al., 2008; Clucas et al., 2002; Demouchy et al., 2024; Kostić and Roy, 2002). The CDC-25-2 phosphatase also appears to regulate intestinal divisions: in *cdc-25-2* loss-of-function mutants, the E2 to E4 division has been reported to be slower and the E16 to E20 division does not occur, suggesting that CDC-25-2 contributes to cell cycle progression together with CDC-25.1 in early intestinal divisions and becomes essential for the E16 to E20 division (Lee et al., 2016; Nair et al., 2013). On the other hand, the WEE-1.1 kinase starts to be

expressed in the intestinal lineage at the E2 stage and prevents G2/M transition through the inhibition of CDK-1, thereby contributing to cell cycle length increase (Robertson et al., 2014). Consistent with the late appearance of a G1 phase, cyclin D1 (CYD-1), which promotes G1 progression, is required solely for the E16 to E20 division (Boxem and Van Den Heuvel, 2001). Loss of the CDK inhibitor CKI-1 also does not affect cell cycle length until the E16 stage but leads to the abnormal late division of all intestinal cells after the E16 stage (Kostić and Roy, 2002). Altogether, those observations suggest that both CYD-1 and CKI-1 are essential regulators of the E16 to E20 division, with CYD-1 promoting G1 progression and division in the most anterior and posterior intestinal cells and CKI-1 preventing cell cycle progression in the remaining enterocytes.

Intestinal fate specification relies on the restricted expression of two GATA transcription factors, END-1 and END-3, in the E blastomere (Maduro et al., 2005; Zhu et al., 1997; Zhu et al., 1998). END-1 and END-3 then trigger the expression of the differentiation GATA factors ELT-7 and ELT-2, which start to be expressed at the E2 and E4 stage, respectively, and persist in enterocytes until adulthood (Nair et al., 2013; Sommermann et al., 2010; Wiesenfahrt et al., 2016). ELT-2 is a major regulator of intestinal differentiation and controls the transcription of more than 80% of intestinal specific genes, including digestion enzymes, nutrient transporters and microvilli components (McGhee et al., 2009). Consequently, *elt-2* null mutants display short and irregular microvilli and die as L1 larvae but nevertheless display a continuous intestinal lumen as well as typical gut granules (Fukushige et al., 1998). This persistence of some aspects of intestinal differentiation in the absence of ELT-2 is due to the partial redundancy between ELT-2 and ELT-7 (Dineen et al., 2018; Sommermann et al., 2010). Consistently, in larvae lacking both ELT-2 and ELT-7, large portions of the intestine show neither a lumen nor gut granules (Sommermann et al., 2010).

Polarization of the intestinal epithelium and formation of the brush border are two major steps of intestinal differentiation. Polarization becomes apparent at the E16 stage when the polarity proteins PAR-3, PAR-6 and PKC-3 start to accumulate at the apical membrane of enterocytes (Achilleos et al., 2010; Leung et al., 1999; Totong et al., 2007). Some microvilli components, including the intestine

specific isoform of actin ACT-5 and the actin/membrane linker ERM-1, also start to localize at the apical membrane during the E16 stage, prior to microvilli formation (Bidaud-Meynard et al., 2021). Microvilli start to grow between the 1.5- and 2-fold stage embryonic stages, when the intestine has reached the E20 stage (Asan et al., 2016; Bidaud-Meynard et al., 2021). At this point, the apical localization of ACT-5 and ERM-1 markedly increases and additional microvilli components, in particular the actin-capping protein EPS-8, are also recruited to growing microvilli (Bidaud-Meynard et al., 2021).

Thus, polarization and the first apical accumulation of brush border components occur at the E16 stage while microvilli formation starts at the E20 stage once the cell cycle is arrested in all intestinal cells. Here we first ask whether the timing of those differentiation steps is linked to the timing of cell divisions. By using a *cdc-25(gof)* mutation that accelerates intestinal division, we show that there is no precocious polarization or brush border formation when intestinal cells divide faster, indicating that differentiation is not triggered by the number of divisions undergone by intestinal cells. We next tested the effect of delaying cell cycle arrest by inducing the degradation of the cell cycle inhibitor CKI-1. We found that only some aspects of brush border formation are delayed when intestinal cells undergo an extra-round of divisions, thereby showing that some, but not all, aspects of differentiation require prior cell cycle arrest. Finally, we reciprocally assessed whether differentiation factors control intestinal divisions. Strikingly we found that the lack of ELT-2 and ELT-7 induce supernumerary intestinal divisions but that this phenomenon is restricted to the most posterior intestinal cells, suggesting that additional mechanisms, independent of the differentiation program, ensure that intestinal cells stop dividing.

## **Results**

### **Acceleration of intestinal cell cycles does not lead to precocious polarization or brush border formation**

In control embryos, polarization occurs at the E16 stage, just before the beginning of embryonic elongation, and brush border formation at the E20 stage, when the embryos reach the 2-fold stage (Fig.S1). We first wondered whether the timing of these intestinal differentiation steps was defined by

the number of cell cycles undergone by intestinal blastomeres. If this were the case, one would expect polarization and/or brush border formation to occur earlier in embryos in which intestinal divisions occur faster. To test this hypothesis, we took advantage of the *cdc-25.1(rr31)* gain-of-function mutation, which has been shown to accelerate intestinal cell cycles and to lead to an additional division of intestinal blastomeres (Demouchy et al., 2024; Kostić and Roy, 2002). As a consequence, *cdc-25.1(rr31)* embryos reach the E8 and E16 stage earlier than control embryos and eventually display on average 38 intestinal cells (Demouchy et al., 2024; Kostić and Roy, 2002) (Fig.S1). Consistently, we observed that control embryos reached the E16 stage prior to the beginning of embryonic elongation whereas *cdc-25.1(rr31)* embryos already had 32 intestinal cells at this same stage (Fig.1A). To assess the timing of epithelial polarization, we looked at the apical accumulation of the PAR protein PAR-3. As previously described, in control embryos, PAR-3 started to accumulate in discrete foci at the apical membrane of enterocytes at the early E16 stage and eventually formed a continuous apical line later during the E16 stage, when the embryo was about to start elongating (Fig.1A) (Achilleos et al., 2010). In *cdc-25.1(rr31)* embryos, foci started to accumulate at the early E32 stage and formed a continuous line later during the E32 stage, short prior to the beginning of elongation (Fig.1A). By contrast, no apical PAR-3 foci were observed at the E16 stage (Fig.1A). Thus, although intestinal cells divide faster in *cdc-25.1(rr31)* embryos, they do not polarize prematurely, indicating that reaching the E16 stage is not sufficient to trigger polarization. We next examined the timing of brush border formation by analyzing the apical accumulation of the brush border proteins ERM-1 and EPS-8. In control embryos, ERM-1 and EPS-8 progressively accumulated at the apical membrane during the first steps of embryonic elongation, as microvilli start to grow (Fig.1B-C) (Bidaud-Meynard et al., 2021). No precocious accumulation of either ERM-1 (Fig.1B) or EPS-8 (Fig1.C) was observed in *cdc-25.1(rr31)* embryos; ERM-1 accumulation was even slightly reduced (Fig.1B). Altogether, our results thus indicate that the timing of intestinal polarization and brush border formation is not linked to the number of cell cycles undergone by intestinal blastomeres.

### **Retardation of cell cycle arrest delays the recruitment of some brush border components**

We next asked whether cell cycle arrest was a prerequisite for brush border formation. CKI-1 was previously shown to be required for cell cycle arrest (Fig.S2A) (Kostić and Roy, 2002). We therefore used an auxin-inducible degron to specifically degrade CKI-1 in the intestine and induce the appearance of a late supplemental intestinal division (see material and methods for details). Following CKI-1 degradation, 2-fold embryos displayed around 30 intestinal cells (Fig.S2B). No increase in intestinal cell number was observed at the beginning of elongation (Fig.S2B, early lima bean stage), confirming that the supernumerary intestinal cells observed at the 2-fold stage arose from a late additional division. We first examined the effect of CKI-1 degradation on the timing of ERM-1 apical accumulation, which did not seem to be altered (Fig.2A). By contrast, we found that CKI-1 degradation delays the recruitment of EPS-8 to the apical membrane. Indeed, while EPS-8 apical accumulation became clearly apparent at the 2-fold stage in control embryos, it markedly increased only at the 3-fold stage following CKI-1 degradation (Fig.2B). This observation strongly suggests that the accumulation of EPS-8 at the apical membrane requires a prior arrest of the cell cycle, thereby pointing towards the existence of a mechanism linking the timing of at least some aspects of intestinal differentiation to cell cycle progression.

### **Intestinal polarization and brush border formation are not required to arrest intestinal cell divisions**

We next sought to determine whether intestinal differentiation reciprocally controls cell cycle progression. We first tested whether the occurrence of two major differentiation steps, polarization and/or brush border formation, could contribute to cell cycle arrest. We first tested the possible role of polarization by degrading the polarity protein PAR-3 in intestinal cells (Fig.S3A) and found that 2-fold embryos without PAR-3 had the same number of intestinal nuclei as control embryos (Fig.S3B). We next assessed the importance of brush border formation by depleting ACT-5 (Fig.S3C), the intestinal specific form of actin, which has been shown to be required for microvilli formation (MacQueen et al., 2005) and observed that 2-fold embryos lacking ACT-5 displayed 20 intestinal nuclei



(Fig.S3D). Thus, cell cycle arrest occurs in intestinal cells independently of both polarization and brush border formation onset.

### **ELT-2 and ELT-7 are required to prevent the appearance of supernumerary divisions in posterior intestinal cells**

We next asked whether the differentiation factors ELT-2 and ELT-7 themselves could be involved in controlling cell cycle progression. Depleting ELT-2 by RNAi was sufficient to induce strong brush border and lumen defects (Fig.S4A-B). We nevertheless found that control and *elt-2(RNAi)* 2-fold embryos both displayed 20 intestinal nuclei (Fig.3A). Similarly, *elt-7(tm840)* null mutants displayed 20 intestinal nuclei at the 2-fold stage (Fig.3B). Thus, the loss of either ELT-2 or ELT-7 is not sufficient to affect intestinal divisions. To unveil a possible redundant effect of ELT-2 and ELT-7, we next depleted ELT-2 by RNAi in *elt-7(tm840)* embryos. Interestingly, we observed the presence of supernumerary intestinal nuclei in *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* 2-fold embryos (Fig.3B), strongly suggesting that ELT-2 and ELT-7 act redundantly to restrict the number of intestinal cells. Importantly, we did not observe any increase in intestinal cell number in *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryos at the beginning of elongation (Fig.3B, early lima bean stage), suggesting that the presence of extra nuclei at the 2-fold stage is due to late supernumerary divisions. To test whether the presence of supernumerary intestinal nuclei was indeed due to supernumerary cell divisions and not for instance to endomitosis, we next counted the number of intestinal cells in embryos expressing both the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry* and the membrane marker *end1p::GFP::CAAX*. This showed that *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* 2-fold embryos do not display only supernumerary intestinal nuclei but also supernumerary intestinal cells (Fig.3C). Altogether our observations indicate that ELT-2 and ELT-7 act redundantly to prevent abnormal late divisions of intestinal cells. Notably, both the most posterior nuclei (Fig.3B) and the most posterior cells (Fig.3C) of *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* intestines appeared smaller than others, suggesting that extra divisions may occur in the posterior region of the intestine.

To undoubtedly determine the origin of supernumerary intestinal cells, we next recorded the late steps of intestinal development in *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryos expressing *end1p::H1::mCherry* and *end1p::GFP::CAAX*. These movies revealed that *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryos first underwent the E16 to E20 transition as described in wildtype embryos (Asan et al., 2016), with cells from both the most anterior and most posterior rings dividing once (Fig.4). However, *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryos also displayed supernumerary divisions (n=12/14 embryos) (Fig.4), which occurred on average 58 min (min/max=36/93 min, n=8) after the E20 stage and emanated from cells of the 9<sup>th</sup> intestinal ring (n=12/12 embryos with supernumerary divisions), occasionally also from the 8<sup>th</sup> intestinal ring (n=7/12 embryos with supernumerary divisions). Thus, once the intestine has reached the E20 stage, the differentiation factors ELT-2 and ELT-7 appear to be required to arrest cell divisions specifically in the most posterior enterocytes.

#### **Posterior enterocytes undergoing a supernumerary division show an abnormally late re-accumulation of Cyclin B1**

We then set out to determine whether the appearance of a late additional division in the most posterior enterocytes was associated with changes in the expression of cell cycle regulators. First, we examined the expression of cyclin B1 (CYB-1), one of the three B-type cyclins, which, together with CDK-1, ensure proper progression through M phase (van der Voet et al., 2009). In E16 stage control embryos, CYB-1::GFP was never observed in cells that had stopped dividing but accumulated in the nuclei of enterocytes from the first and last intestinal rings (rings 1 and 8) before they divided to give rise to the E20 stage intestine (n=16/16 embryos) (Fig.S5). Occasionally, nuclear accumulation of CYB-1::GFP was also visible in one or two cells of the 7<sup>th</sup> intestinal ring (n=5/16 and 2/16 embryos, respectively). These cells then also divided again, leading to the formation of an intestine composed of 21 or 22 cells. Such an occasional presence of 21 or 22 intestinal cells has been previously described (Sulston and Horvitz, 1977). Importantly, CYB-1::GFP was no longer visible once the intestine had reached the E20 (or E21/E22) cell stage (Fig.S5). Similarly, in E16 stage *elt-7(tm840)* embryos treated with control RNAi, CYB-1::GFP accumulated in the nuclei of the first and last intestinal ring enterocytes

until they divided and did not reappear in their daughter cells (n=12/12 embryos) (Fig.5A). In E16 stage *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryos, CYB-1::GFP also accumulated in the nuclei of the first and last intestinal ring enterocytes until they divided (n=11/11 embryos) (Fig.5B). CYB-1::GFP then never reappeared in the daughter cells of the first intestinal ring (n=11/11 embryos) but accumulated again in one (n=4/11 embryos) or two (n=5/11 embryos) pairs of posterior daughter cells (Fig.5B). Among these 9 embryos that displayed a late accumulation of CYB-1::GFP, 8 then underwent supernumerary late divisions. In 2/11 embryos, CYB-1::GFP did not reappear in the posterior daughter cells; no supernumerary division was observed in those embryos. Thus, in the absence of ELT-2 and ELT-7, the abnormally late expression of the mitotic cyclin CYB-1 precedes the supernumerary division of the most posterior intestinal cells.

#### **CKI-1 accumulation is delayed in posterior enterocytes undergoing a supernumerary division**

We then examined whether the loss of ELT-2 and ELT-7 alters the expression of the cell cycle inhibitor CKI-1. During the E16/E20 transition in control embryos, GFP::CKI-1 transiently accumulated in the nuclei of the cells produced by the division of the first and last intestinal rings (Fig.S6A-B). A weak nuclear signal sometimes preceded division: this signal was visible in n=6/10 and 4/10 embryos for anterior and posterior cells, respectively, and appeared on average 20 min before division. GFP::CKI-1 then accumulated in the nuclei of anterior and posterior daughter cells just after division: 7/10 embryos displayed an accumulation in anterior nuclei (6 in both pairs of daughter cells, 1 in only one pair) and 9/10 in posterior nuclei (7 in both pairs of daughter cells and 2 in only one pair). GFP::CKI-1 levels then progressively decreased until no more GFP::CKI-1 could be detected (on average 35 and 40 minutes after the division of anterior and posterior cells, respectively) (Fig.S6A-B). GFP::CKI-1 displayed a similar transient accumulation in E16/E20 stage *elt-7(tm840)* embryos treated with control RNAi (Fig.6A-B): prior to the division of anterior and posterior cells, a weak nuclear signal was visible in n=8/10 and 4/10 embryos, respectively; after division, GFP::CKI-1 accumulated in the nuclei of anterior and posterior daughter cells (in all anterior daughter cell nuclei in n=10/10 embryos, in all posterior daughter cell nuclei in 9/10 embryos and in one pair of posterior daughter cells in 1/10 embryo). In

E16/E20 stage *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryos, GFP::CKI-1 also transiently accumulated in the two most anterior intestinal nuclei: it was visible in 2/9 embryos before division and in 8/9 embryos after division (in all anterior daughter cells in 6/9 embryos and in one pair of anterior daughter cells in 2/9 embryos) (Fig.6C). By contrast, when the two most posterior intestinal cells divided, GFP::CKI-1 was detected in 1/9 embryo prior to division and in none or only one pair of daughter cells after division in 5/9 and 4/9 embryos, respectively (Fig.6D). Among these 9 embryos, at least 8 then underwent late supernumerary divisions, with 7/8 showing a late nuclear accumulation of GFP::CKI-1 in supernumerary cells (Fig.6D). Our observations thus show that, during the E16/E20 transition, CKI-1 normally transiently accumulates in the nuclei of anterior and posterior intestinal cells once they have undergone their last division. This accumulation is likely to drive cell cycle arrest. However, in the absence of ELT-2 and ELT-7, the accumulation of CKI-1 in posterior nuclei after the E16/E20 division is severely reduced; this lack of CKI-1 accumulation probably contributes to the ability of posterior cells to divide one more time.

Altogether, our results demonstrate that ELT-2 and ELT-7 are required to prevent to occurrence of supernumerary late divisions in posterior intestinal cells. In the absence of ELT-2 and ELT-7, posterior intestinal cells do not accumulate the cell cycle inhibitor CKI-1 after the E16/E20 transition but rather re-accumulate cyclin B1, a major regulator of the G2/M transition. Those changes in the accumulation of cell cycle regulators are likely to drive the appearance of a supernumerary division.

## **Discussion**

In this study, we addressed how cell proliferation and differentiation are regulated during development by using the *C. elegans* intestine as a model system. We have shown that acceleration of intestinal divisions does not impact the timing of differentiation whereas delaying cell cycle arrest postpone the recruitment of some brush border components. Reciprocally, we also have found that

differentiation factors are required to restrain intestinal divisions, although this function surprisingly appears to be restricted to the most posterior intestinal cells.

The first signs of intestinal differentiation, namely polarization and apical recruitment of some microvilli components such as ERM-1, are visible at the E16, when most intestinal have ceased dividing and during the long interphase that precedes the last division of the most anterior and posterior intestinal cells (Achilleos et al., 2010; Bidaud-Meynard et al., 2021; Leung et al., 1999; Totong et al., 2007). The next important steps of differentiation, including gut granules formation, microvilli growth and nutrient transporter expression, are initiated at the lima bean, 2-fold and 3-fold stage, respectively, once the intestine has reached the E20 stage and all intestinal cells have undergone cell cycle arrest (Asan et al., 2016; Bidaud-Meynard et al., 2019; Hermann et al., 2005 and our unpublished observations). This led us to wonder whether the timing of intestinal cell divisions and differentiation were regulated by two independent timers that happen to coincide or whether some mechanisms exist to actively coordinate the two processes. In the latter case, we hypothesized that either the number of cell divisions undergone by intestinal cells could be used as a clock controlling differentiation or that the cell cycle status, namely cell cycle arrest, could be the trigger for differentiation. We find that acceleration of the cell cycle induced by a *cdc-25.1* gain-of-function mutation leads neither to the premature polarization of intestinal nor to the precocious recruitment of brush border components. Thus, the number of divisions undergone by intestinal cells is not sufficient to provide the temporal information required to induce differentiation in a timely manner. By contrast, we show that degrading the cell cycle inhibitor CKI-1 in intestinal cells in order to delay cell cycle arrest is sufficient to delay the apical recruitment of the brush border component EPS-8. These observations indicate that CKI-1 is required to induce the timely recruitment of some brush border components, thereby revealing its ability to couple cell cycle arrest with some aspects of intestinal differentiation.

The mechanisms by which CKI-1 degradation delays EPS-8 recruitment remain to be investigated. This effect could be due to the delay in cell cycle arrest per se and to the prolonged activity of cyclin-CDK

complexes. Notably, cyclin-CDK complexes have been shown to regulate actin-binding proteins, for instance both cyclin B1-CDK1 and cyclin D1-CDK4/6 phosphorylate filamin (Cukier et al., 2007; Zhong et al., 2010), an actin cross-linker whose homolog FLN-2 accumulates at the base of microvilli in *C. elegans* (Bidaud-Meynard et al., 2019). Moreover, in *C. elegans* enterocytes, enterohemorrhagic *E. coli* intriguingly induce microvilli effacement and redistribution of ACT-5 to the cytoplasm in a CDK-1 dependent manner. This effect of CDK-1 on ACT-5 involves the phosphorylation of the formin CYK-1 by CDK-1 (Huang et al., 2021). It is therefore plausible that introducing an additional cell cycle modifies actin dynamics and impairs the recruitment of brush border components through the abnormally late activity of cyclin-CDK complexes. Alternatively, it is possible that the delayed recruitment of EPS-8 is not directly due to prolonged cell cycle but to the lack of a cell-cycle independent function CKI-1. CKI homologues have for instance been shown to promote muscle and neuronal differentiation by stabilizing the MyoD and Neurogenin 2 transcription factors, respectively (Nguyen et al., 2006; Reynaud et al., 2000; Vernon and Philpott, 2003; Vernon et al., 2003). They are also able to regulate the cytoskeleton through the Rho/ROCK/LIMK/cofilin pathway (Besson et al., 2008). In the *C. elegans* intestine, the loss of CKI-1 does not seem to delay all aspects of intestinal differentiation. In particular, ERM-1 apical recruitment appears to be unaffected, suggesting that CKI-1 is unlikely to control brush border formation through the regulation of the differentiation factors ELT-2 and ELT-7. It is however possible that the loss of CKI-1 induces alterations in the Rho/ROCK/LIMK/cofilin pathway, thereby modifying the dynamics of actin filaments and the recruitment of actin-binding proteins such as EPS-8.

Our results indicate that the timing of some aspects of brush border formation is regulated by the cell cycle status and/or CKI-1. It is however noteworthy that delaying cell cycle arrest does not seem to hamper the apical recruitment of ERM-1. This strongly suggests that early aspects of differentiation, such as ERM-1 apical recruitment, which normally occur at the E16 stage, that is before the last intestinal divisions, are not temporally regulated by cell cycle arrest; by contrast, later steps of differentiation, including EPS-8 apical recruitment, which normally occur at the E20 stage when all

intestinal cells have ceased dividing, may rely on cell cycle regulators. These observations confirm that the relationships between cell cycle and differentiation are dependent on the developmental context. The ability of cells to at least initiate differentiation before cell cycle arrest may favor a smooth transition from undifferentiated progenitors to fully differentiated post-mitotic cells and help to produce of a sufficient pool of differentiated cells in tissues with a high demand for cell production such as the epidermis (Cockburn et al., 2022). By contrast, the dependence of late differentiation steps on cell cycle arrest may ensure that highly specialized structures such as the brush border do not form in cells that will divide again.

While our first results indicated that cell cycle regulators control some aspects of intestinal differentiation, we next asked whether differentiation factors reciprocally regulate the ability of intestinal cells to divide. Previous studies have shown that the properties of intestinal cell cycles are tightly linked to the acquisition of intestinal cell fate. Intestinal specification is in particular both necessary and sufficient to control the number of intestinal cell divisions. Pioneering work has indeed shown that isolated E blastomeres divide to produce a 16-20 cell cyst-like structure, indicating that they contain most of the information required to control the number of intestinal cell cycles (Leung et al., 1999). It was also shown that defects in intestinal specification lead to the appearance of supernumerary E descendants, suggesting that specification signals restrict the number of intestinal divisions (Choi et al., 2017; Robertson et al., 2014). It is however noteworthy that several hours separate intestinal specification and cell cycle arrest, raising the question of the signal that may act as a relay between specification factors and exit of the cell cycle. Our observations demonstrate that, although specific differentiation steps, namely polarization and brush border formation, do not trigger cell cycle arrest, the differentiation factors ELT-2 and ELT-7 themselves prevent the occurrence of some late intestinal divisions. Our results show that ELT-2 and ELT-7 allow the accumulation of CKI-1 in posterior intestinal cells after the E16/E20 transition. In the absence of ELT-2 and ELT-7, the lack of CKI-1 accumulation in posterior cells after the E16 to E20 division is likely to contribute to their ability to reenter the cell cycle, to re-accumulate cyclin B1 and divide once more.

In mammals several GATA factors have been shown to directly promote the transcription of CKI homologues (Agnihotri et al., 2009; Papetti et al., 2010; Xu et al., 2021), suggesting that ELT-2 and ELT-7 could directly control CKI-1 expression. Nevertheless, although ELT-2 and ELT-7 start to be expressed in all intestinal cells from the E2/E4 stages on (Nair et al., 2013; Sommermann et al., 2010), our results strikingly show that they do not inhibit divisions prior to the E20 stage but rather specifically prevent the late occurrence of supernumerary divisions in the most posterior intestinal cells. These observations suggest that additional mechanisms ensure cell cycle progression during early intestinal development and that posterior cells are more prone to escape cell cycle arrest once the intestine has reached the E20 stage. Posterior intestinal cells distinguish themselves from more anterior cells in particular by the expression of two Hox transcription factors, NOB-1 and PHP-3 (Liu and Murray, 2023; Murray et al., 2022; Zhao et al., 2010). Interestingly, Hox family members have been shown to promote proliferation in *C. elegans* (Heinze et al., 2023; Roiz et al., 2016), raising the possibility that the presence of NOB-1 and/or PHP-3 in posterior cells could contribute to their ability to undergo supernumerary divisions in the absence of ELT-2 and ELT-7.

In conclusion, our work reveals the existence of reciprocal interactions between the cell proliferation and cell differentiation programs during the development of the *C. elegans* intestine. We show on one hand that delaying cell cycle arrest hampers the recruitment of some brush border components. On the other hand, we find that the differentiation factors ELT-2 and ELT-7 are required to prevent late supernumerary divisions in posterior intestinal cells. These mechanisms are likely to be important to coordinate intestinal differentiation with intestinal divisions. We however find that not all differentiation steps require prior cell cycle arrest and, reciprocally, that cell cycle arrest in most intestinal cells does not rely on differentiation factors. This study thus underlines that proliferation and differentiation are only partially coupled, suggesting the existence of additional mechanisms ensuring their temporal control.



## Materials and Methods

### Worm strains

Strains were grown on agar plates containing NGM growth media and seeded with *E. coli* (OP50 strain) and maintained at 20°C. The strains used in this study are listed in Table S1.

### New CRISPR strains

CRISPR-CAS9-genome edited CKI-1::AID::BFP strain was generated at the SEGiCel facility (SFR Santé Lyon Est, CNRS UAR 3453, Lyon, France). It was obtained by inserting a GASGAS linker, an Auxin Inducible Degron (AID, MPKDKPAKPPAKAQVVGWPPVRSYRKNVMVSCQKSSGGPEAAAFVK) (Zhang et al., 2015), a GGGGSGGG linker and tagBFP2 to the C-terminus of CKI-1.

### Auxin induced degradation

Intestine specific degradation of CKI-1 was induced by incubating at 20°C embryos expressing CKI-1::AID::BFP and the auxin receptor TIR-1 under the control of the *elt-2* promoter in 5 mM IAA-AM (acetoxymethyl indole-3-acetic acid, a cell permeable form of auxin which is able to trigger degradation in embryos (Negishi et al., 2019)). After 4 h of auxin treatment, all 2-fold embryos displayed supernumerary enterocytes, suggesting that CKI-1 was efficiently degraded. The effect of extra intestinal cell divisions on ERM-1 and EPS-8 apical accumulation was measured in comma to 3-fold embryos after 4 h of auxin treatment.

### RNAi vectors and feeding conditions

RNAi was performed by feeding worms with RNAi clones 48 h on 1 mM IPTG plates. L4440 was used as a control (Timmons and Fire, 1998). For *elt-2* RNAi, a 555bp fragment amplified from the *elt-2* genomic sequence (oligos F-tacaacaaatcaatacagg and R-ataaaagttgatcacgtacc) was cloned into a Gateway compatible L4440 vector.

### Microscopy and time-lapse recordings

For still imaging of live embryos, embryos were mounted on 2% agarose pads in a drop of M9 medium enriched in OP50 bacteria to immobilize embryos. Standard confocal images were acquired with a SP8 confocal microscope (Leica) equipped with a HC Plan-Apo 63×, 1.4 NA objective and the LAS AF

software. Z-stacks were acquired with 300 or 400 nm steps. Superresolution images were acquired with a LSM 880 microscope (Zeiss), equipped with a Plan-Apo 63 $\times$ , 1.4 NA objective and the Zen Black software. The Airy Scan module was used to obtain superresolution images.

For time-lapse experiments, adult hermaphrodites were dissected in M9 medium. Embryos were then transferred to a 4  $\mu$ L drop of M9 medium on a 35 mm glass bottom dish (poly-D-lysine coated, 14 mm microwell, No 1.5 coverglass, MatTek). Excess of M9 was then removed to ensure adhesion of embryos to poly-D-Lysine and 2 mL of mineral oil (Light Oil (neat), Sigma) was used to cover the drop of M9. Recordings were performed on a Leica DMI8 spinning disc microscope equipped with a HCX Plan-Apo 63 $\times$ , 1.4 NA objective and a photometrics Evolve EMCCD camera. The setup was controlled by the InSoper Imaging Suite. Embryos were maintained at 23°C during recordings. Images were acquired at 3 minutes intervals. Z-stacks were acquired with 400 nm steps.

#### Image analysis and quantifications

Images were assembled for illustration using the Fiji and Inkscape 1.1 softwares. All embryos are oriented with the anterior pole to the left. Max intensity z-projections were obtained with Fiji. Quantifications of ERM-1 and EPS-8 apical levels were performed with Fiji, by measuring mean fluorescence intensity along a segmented line covering the whole intestine (E16 to 2-fold embryos) or the visible part of the anterior intestine (3-fold embryos). Fig.3A-B, Fig.S2B, Fig.S3B,D and Fig.S4A have been post-treated with a 3D Gaussian filter(X sigma=2, Y sigma=2, Z sigma=2, Fiji). Fig.S3C has been post-treated with a 3D Gaussian filter (X sigma=1, Y sigma=1, Z sigma=1, Fiji). All the movies have been post-treated with a 3D Gaussian filter (X sigma=2, Y sigma=2, Z sigma=2, Fiji).

#### Statistical analysis

Statistical analysis and graphic representations were performed with the Graphpad Prism 10.0.3 software. Graphs show all individual values (dots), the median and the standard deviation (black lines). Details of the statistical tests used are indicated in each figure legend. Two-tailed unpaired Student's t tests were performed when data passed the Shapiro and Kolmogorov-Smirnov normality tests and

when sample variance was equal; two-tailed Welch's t tests were performed when data passed the Shapiro and Kolmogorov-Smirnov normality tests and when sample variance was unequal; two-tailed non-parametric Mann-Whitney tests were performed when data did not pass the Shapiro or Kolmogorov-Smirnov normality test.

## **Acknowledgments**

We thank M. Boxem, J. Sepers and H. Pires for kindly sharing their GFP::degron::PAR-3 strain prior to publication as well as V. Gobel, K. Kempfues, M. Maduro, M. Soto and the *Caenorhabditis* Genetics Center (funded by the National Institute of Health Office of Research Infrastructure Programs, P40 OD010440) for providing worm strains. The CKI-1::degron strain was generated by the SEGiCel Facility (SFR Santé Lyon Est, CNRS UAR 3453, Lyon, France). M. Kanemaki provided us with modified auxin. We thank the Michaux and Pecreaux labs as well as L. Pintard, F. Pituello and L. Bataillé for valuable discussions. Imaging was performed at the Microscopy Rennes imaging Center (MRiC Photonics, Biosit, Rennes, France), a member of the national infrastructure France-BioImaging supported by the French National Research Agency (ANR-10-INBS-04).

## **Funding**

This work was supported by the Ligue Contre le Cancer (22, 35), the Fondation ARC (PJA 20191209366), the Fondation Maladies Rares (EXM-2019-1013) and the ANR (GroBluRe). GM laboratory also received institutional funding from the Centre National de la Recherche Scientifique and the Université de Rennes. The authors declare no competing financial interests.

## **Author contributions**

Conceptualization: J.D., G.M., A.P.; Methodology: J.D., A.P.; Validation: J.D., G.M., A.P.; Formal analysis: J.D., A.P.; Investigation: J.D.; Writing – original draft preparation: J.D., A.P.; Writing – Review and editing: J.D., G.M., A.P.; Visualization: J.D.; Supervision: G.M., A.P.; Project administration: G.M.; Funding Acquisition: G.M., A.P.

## References

- Achilleos, A., Wehman, A. M. and Nance, J.** (2010). PAR-3 mediates the initial clustering and apical localization of junction and polarity proteins during *C. elegans* intestinal epithelial cell polarization. *Development* **137**, 1833–1842.
- Adikes, R. C., Kohrman, A. Q., Martinez, M. A. Q., Palmisano, N. J., Smith, J. J., Medwig-Kinney, T. N., Min, M., Sallee, M. D., Ahmed, O. B., Kim, N., et al.** (2020). Visualizing the metazoan proliferation-quiescence decision in vivo. *eLife* **9**, e63265.
- Agnihotri, S., Wolf, A., Picard, D., Hawkins, C. and Guha, A.** (2009). GATA4 is a regulator of astrocyte cell proliferation and apoptosis in the human and murine central nervous system. *Oncogene* **28**, 3033–3046.
- Asan, A., Raiders, S. A. and Priess, J. R.** (2016). Morphogenesis of the *C. elegans* Intestine Involves Axon Guidance Genes. *PLoS Genet* **12**, e1005950.
- Bao, Z., Zhao, Z., Boyle, T. J., Murray, J. I. and Waterston, R. H.** (2008). Control of cell cycle timing during *C. elegans* embryogenesis. *Dev Biol* **318**, 65–72.
- Besson, A., Dowdy, S. F. and Roberts, J. M.** (2008). CDK inhibitors: cell cycle regulators and beyond. *Dev Cell* **14**, 159–169.
- Bidaud-Meynard, A., Nicolle, O., Heck, M., Le Cunff, Y. and Michaux, G.** (2019). A V0-ATPase-dependent apical trafficking pathway maintains the polarity of the intestinal absorptive membrane. *Development* **146**, dev174508.
- Bidaud-Meynard, A., Demouchy, F., Nicolle, O., Pacquelet, A., Suman, S. K., Plancke, C. N., Robin, F. B. and Michaux, G.** (2021). High-resolution dynamic mapping of the *C. elegans* intestinal brush border. *Development* **148**, dev200029.
- Boxem, M. and Van Den Heuvel, S.** (2001). *lin-35* Rb and *cki-1* Cip/Kip cooperate in developmental regulation of G1 progression in *C. elegans*. *Development* **128**, 4349–4359.
- Castiglioni, V. G., Pires, H. R., Rosas Bertolini, R., Riga, A., Kerver, J. and Boxem, M.** (2020). Epidermal PAR-6 and PKC-3 are essential for larval development of *C. elegans* and organize non-centrosomal microtubules. *Elife* **9**,.
- Choi, H., Broitman-Maduro, G. and Maduro, M. F.** (2017). Partially compromised specification causes stochastic effects on gut development in *C. elegans*. *Dev Biol* **427**, 49–60.
- Clucas, C., Cabello, J., Büssing, I., Schnabel, R. and Johnstone, I. L.** (2002). Oncogenic potential of a *C. elegans* *cdc25* gene is demonstrated by a gain-of-function allele. *EMBO J* **21**, 665–674.
- Cockburn, K., Annusver, K., Gonzalez, D. G., Ganesan, S., May, D. P., Mesa, K. R., Kawaguchi, K., Kasper, M. and Greco, V.** (2022). Gradual differentiation uncoupled from cell cycle exit generates heterogeneity in the epidermal stem cell layer. *Nat Cell Biol* **24**, 1692–1700.
- Cukier, I. H., Li, Y. and Lee, J. M.** (2007). Cyclin B1/Cdk1 binds and phosphorylates Filamin A and regulates its ability to cross-link actin. *FEBS Lett* **581**, 1661–1672.
- Demouchy, F., Nicolle, O., Michaux, G. and Pacquelet, A.** (2024). PAR-4/LKB1 prevents intestinal hyperplasia by restricting endoderm specification in *Caenorhabditis elegans* embryos. *Development* **151**, dev202205.

- Dineen, A., Osborne Nishimura, E., Goszczynski, B., Rothman, J. H. and McGhee, J. D.** (2018). Quantitating transcription factor redundancy: The relative roles of the ELT-2 and ELT-7 GATA factors in the *C. elegans* endoderm. *Dev Biol* **435**, 150–161.
- Edgar, L. G. and McGhee, J. D.** (1988). DNA synthesis and the control of embryonic gene expression in *C. elegans*. *Cell* **53**, 589–599.
- Fukushige, T., Hawkins, M. G. and McGhee, J. D.** (1998). The GATA-factor *elt-2* is essential for formation of the *Caenorhabditis elegans* intestine. *Developmental Biology* **198**, 286–302.
- Heinze, S. D., Berger, S., Engleitner, S., Daube, M. and Hajnal, A.** (2023). Prolonging somatic cell proliferation through constitutive *hox* gene expression in *C. elegans*. *Nat Commun* **14**, 6850.
- Hermann, G. J., Schroeder, L. K., Hieb, C. A., Kershner, A. M., Rabbitts, B. M., Fonarev, P., Grant, B. D. and Priess, J. R.** (2005). Genetic analysis of lysosomal trafficking in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell* **16**, 3273–3288.
- Huang, C.-R., Kuo, C.-J., Huang, C.-W., Chen, Y.-T., Liu, B.-Y., Lee, C.-T., Chen, P.-L., Chang, W.-T., Chen, Y.-W., Lee, T.-M., et al.** (2021). Host CDK-1 and formin mediate microvillar effacement induced by enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Nat Commun* **12**, 90.
- Kostić, I. and Roy, R.** (2002). Organ-specific cell division abnormalities caused by mutation in a general cell cycle regulator in *C. elegans*. *Development* **129**, 2155–2165.
- Lee, Y.-U., Son, M., Kim, J., Shim, Y.-H. and Kawasaki, I.** (2016). CDC-25.2, a *C. elegans* ortholog of *cdc25*, is essential for the progression of intestinal divisions. *Cell Cycle* **15**, 654–666.
- Leung, B., Hermann, G. J. and Priess, J. R.** (1999). Organogenesis of the *Caenorhabditis elegans* intestine. *Dev. Biol.* **216**, 114–134.
- Liu, J. and Murray, J. I.** (2023). Mechanisms of lineage specification in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **225**, iyad174.
- Lobjois, V., Bel-Vialar, S., Trousse, F. and Pituello, F.** (2008). Forcing neural progenitor cells to cycle is insufficient to alter cell-fate decision and timing of neuronal differentiation in the spinal cord. *Neural Dev* **3**, 4.
- MacQueen, A. J., Baggett, J. J., Perumov, N., Bauer, R. A., Januszewski, T., Schriefer, L. and Waddle, J. A.** (2005). ACT-5 is an essential *Caenorhabditis elegans* actin required for intestinal microvilli formation. *Mol. Biol. Cell* **16**, 3247–3259.
- Maduro, M. F., Hill, R. J., Heid, P. J., Newman-Smith, E. D., Zhu, J., Priess, J. R. and Rothman, J. H.** (2005). Genetic redundancy in endoderm specification within the genus *Caenorhabditis*. *Developmental Biology* **284**, 509–522.
- Martinez, M. A. Q., Zhao, C. Z., Moore, F. E. Q., Yee, C., Zhang, W., Shen, K., Martin, B. L. and Matus, D. Q.** (2024). Cell cycle perturbation uncouples mitotic progression and invasive behavior in a post-mitotic cell. *Differentiation* **137**, 100765.
- McGhee, J. D., Sleumer, M. C., Bilenky, M., Wong, K., McKay, S. J., Goszczynski, B., Tian, H., Krich, N. D., Khattra, J., Holt, R. A., et al.** (2007). The ELT-2 GATA-factor and the global regulation of transcription in the *C. elegans* intestine. *Dev Biol* **302**, 627–645.
- McGhee, J. D., Fukushige, T., Krause, M. W., Minnema, S. E., Goszczynski, B., Gaudet, J., Kohara, Y., Bossinger, O., Zhao, Y., Khattra, J., et al.** (2009). ELT-2 is the predominant transcription factor

- controlling differentiation and function of the *C. elegans* intestine, from embryo to adult. *Developmental Biology* **327**, 551–565.
- Murray, J. I., Preston, E., Crawford, J. P., Rumley, J. D., Amom, P., Anderson, B. D., Sivaramakrishnan, P., Patel, S. D., Bennett, B. A., Lavon, T. D., et al.** (2022). The anterior Hox gene *ceh-13* and *elt-1/GATA* activate the posterior Hox genes *nob-1* and *php-3* to specify posterior lineages in the *C. elegans* embryo. *PLoS Genet* **18**, e1010187.
- Nair, G., Walton, T., Murray, J. I. and Raj, A.** (2013). Gene transcription is coordinated with, but not dependent on, cell divisions during *C. elegans* embryonic fate specification. *Development* **140**, 3385–3394.
- Negishi, T; Asakawa, M; Kanemaki, MT; Sawa, H** (2019). Modified auxin improves the auxin-inducible degradation (AID) system for laid *C. elegans* embryos.
- Nguyen, L., Besson, A., Heng, J. I.-T., Schuurmans, C., Teboul, L., Parras, C., Philpott, A., Roberts, J. M. and Guillemot, F.** (2006). *p27kip1* independently promotes neuronal differentiation and migration in the cerebral cortex. *Genes Dev* **20**, 1511–1524.
- Papetti, M., Wontakal, S. N., Stopka, T. and Skoultchi, A. I.** (2010). GATA-1 directly regulates *p21* gene expression during erythroid differentiation. *Cell Cycle* **9**, 1972–1980.
- Reynaud, E. G., Leibovitch, M. P., Tintignac, L. A., Pospel, K., Guillier, M. and Leibovitch, S. A.** (2000). Stabilization of MyoD by direct binding to *p57(Kip2)*. *J Biol Chem* **275**, 18767–18776.
- Robertson, S. M., Medina, J. and Lin, R.** (2014). Uncoupling different characteristics of the *C. elegans* E lineage from differentiation of intestinal markers. *PLoS One* **9**, e106309.
- Roiz, D., Escobar-Restrepo, J. M., Leu, P. and Hajnal, A.** (2016). The *C. elegans* hox gene *lin-39* controls cell cycle progression during vulval development. *Dev Biol* **418**, 124–134.
- Ruijtenberg, S. and van den Heuvel, S.** (2016). Coordinating cell proliferation and differentiation: Antagonism between cell cycle regulators and cell type-specific gene expression. *Cell Cycle* **15**, 196–212.
- Sasidharan, S., Borinskaya, S., Patel, F., Bernadskaya, Y., Mandalapu, S., Agapito, M. and Soto, M. C.** (2018). WAVE regulates Cadherin junction assembly and turnover during epithelial polarization. *Dev Biol* **434**, 133–148.
- Sommerrmann, E. M., Strohmaier, K. R., Maduro, M. F. and Rothman, J. H.** (2010). Endoderm development in *Caenorhabditis elegans*: the synergistic action of *ELT-2* and *-7* mediates the specification→differentiation transition. *Dev. Biol.* **347**, 154–166.
- Spike, C. A., Tsukamoto, T. and Greenstein, D.** (2022). Ubiquitin ligases and a processive proteasome facilitate protein clearance during the oocyte-to-embryo transition in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **221**, iyac051.
- Sulston, J. E. and Horvitz, H. R.** (1977). Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* **56**, 110–156.
- Sulston, J. E., Schierenberg, E., White, J. G. and Thomson, J. N.** (1983). The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology* **100**, 64–119.
- Timmons, L. and Fire, A.** (1998). Specific interference by ingested dsRNA. *Nature* **395**, 854.
- Totong, R., Achilleos, A. and Nance, J.** (2007). PAR-6 is required for junction formation but not apicobasal polarization in *C. elegans* embryonic epithelial cells. *Development* **134**, 1259–1268.

- van der Voet, M., Lorson, M. A., Srinivasan, D. G., Bennett, K. L. and van den Heuvel, S.** (2009). *C. elegans* mitotic cyclins have distinct as well as overlapping functions in chromosome segregation. *Cell Cycle* **8**, 4091–4102.
- Vernon, A. E. and Philpott, A.** (2003). A single cdk inhibitor, p27Xic1, functions beyond cell cycle regulation to promote muscle differentiation in *Xenopus*. *Development* **130**, 71–83.
- Vernon, A. E., Devine, C. and Philpott, A.** (2003). The cdk inhibitor p27Xic1 is required for differentiation of primary neurones in *Xenopus*. *Development* **130**, 85–92.
- Wehman, A. M., Poggioli, C., Schweinsberg, P., Grant, B. D. and Nance, J.** (2011). The P4-ATPase TAT-5 inhibits the budding of extracellular vesicles in *C. elegans* embryos. *Curr Biol* **21**, 1951–1959.
- Wiesenfahrt, T., Berg, J. Y., Osborne Nishimura, E., Robinson, A. G., Goszczynski, B., Lieb, J. D. and McGhee, J. D.** (2016). The function and regulation of the GATA factor ELT-2 in the *C. elegans* endoderm. *Development* **143**, 483–491.
- Willms, R. J., Zeng, J. and Campbell, S. D.** (2020). Myt1 Kinase Couples Mitotic Cell Cycle Exit with Differentiation in *Drosophila*. *Cell Rep* **33**, 108400.
- Wong, M.-K., Ho, V. W. S., Huang, X., Chan, L.-Y., Xie, D., Li, R., Ren, X., Guan, G., Ma, Y., Hu, B., et al.** (2022). Initial characterization of gap phase introduction in every cell cycle of *C. elegans* embryogenesis. *Front. Cell Dev. Biol.* **10**, 978962.
- Xu, J., Yu, D., Dong, X., Xie, X., Xu, M., Guo, L., Huang, L., Tang, Q. and Gan, L.** (2021). GATA3 maintains the quiescent state of cochlear supporting cells by regulating p27kip1. *Sci Rep* **11**, 15779.
- Zhang, H., Kim, A., Abraham, N., Khan, L. A., Hall, D. H., Fleming, J. T. and Gobel, V.** (2012). Clathrin and AP-1 regulate apical polarity and lumen formation during *C. elegans* tubulogenesis. *Development* **139**, 2071–2083.
- Zhang, L., Ward, J. D., Cheng, Z. and Dernburg, A. F.** (2015). The auxin-inducible degradation (AID) system enables versatile conditional protein depletion in *C. elegans*. *Development* **142**, 4374–4384.
- Zhao, Z., Boyle, T. J., Liu, Z., Murray, J. I., Wood, W. B. and Waterston, R. H.** (2010). A negative regulatory loop between microRNA and Hox gene controls posterior identities in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet* **6**, e1001089.
- Zhong, Z., Yeow, W.-S., Zou, C., Wassell, R., Wang, C., Pestell, R. G., Quong, J. N. and Quong, A. A.** (2010). Cyclin D1/cyclin-dependent kinase 4 interacts with filamin A and affects the migration and invasion potential of breast cancer cells. *Cancer Res* **70**, 2105–2114.
- Zhu, J., Hill, R. J., Heid, P. J., Fukuyama, M., Sugimoto, A., Priess, J. R. and Rothman, J. H.** (1997). end-1 encodes an apparent GATA factor that specifies the endoderm precursor in *Caenorhabditis elegans* embryos. *Genes & Development* **11**, 2883–2896.
- Zhu, J., Fukushige, T., McGhee, J. D. and Rothman, J. H.** (1998). Reprogramming of early embryonic blastomeres into endodermal progenitors by a *Caenorhabditis elegans* GATA factor. *Genes Dev* **12**, 3809–3814.

**Fig.1: Acceleration of intestinal cell cycles triggered by a *cdc-25.1* gain of function mutation does not lead to precocious polarization or brush border formation.** **A.** Maximum Z-projections from confocal images of control and *cdc-25.1(rr31)* (*cdc-25.1(gof)*) embryos expressing PAR-3::GFP, HMR-1::mKate2 and the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry*. In *cdc-25.1(rr31)* embryos, intestinal cell divisions occur faster such that the intestine reaches the E16 stage approximately at the same time as the E8 stage in control embryos and the E32 stage before elongation initiation (also see Fig.S1). In control and *cdc-25.1(rr31)* embryos, PAR-3 apical foci (blue arrowheads) start to be visible in intestinal cells at the E16 and E32 stage, respectively. PAR-3 then forms an apical line (red arrowheads) just before the beginning of elongation. Dashed lines outline intestinal cells. **B-C.** Maximum Z-projections from confocal images of control and *cdc-25.1(rr31)* (*cdc-25.1(gof)*) embryos expressing ERM-1::mNG (B) or EPS-8::mNG (C) at the indicated embryonic stages and quantification of ERM-1::mNG (B) and EPS-8::mNG (C) fluorescence levels in those embryos (a.u: arbitrary unit). In C, dashed lines outline the extent of the embryos; at the 3-fold stage, the fainter lines indicate the embryonic region which is folding in a lower focal plane. ns: non-significant ( $P>0.05$ ),  $**P<0.01$ , Mann-Whitney test for comma stage in B and 3-fold-stage in C, Welch's t test for 1.5-fold stage in B and 2-fold stage in C, unpaired t test for 2-fold stage in B and 1.5-fold stage in C. Scale bars: 5  $\mu$ m.

**Fig.2: Retardation of cell cycle arrest following CKI-1 degradation induces a delay in the accumulation of the brush border component EPS-8.** Maximum Z-projections from confocal images of auxin-treated embryos expressing ERM-1::mNG (A) or EPS-8::mNG (B) and either *elt-2p::TIR-1* (Control) or both *elt-2p::TIR-1* and CKI-1::degron::BFP (CKI-1::degron) at the indicated embryonic stages and quantification of ERM-1::mNG (A) and EPS-8::mNG (B) fluorescence levels in those embryos (a.u: arbitrary unit). In B, dashed lines outline the extent of the embryos; at the 3-fold stage, the fainter lines indicate the embryonic region which is folding in a lower focal plane. ns: non-significant ( $P>0.05$ ),  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ,  $****P<0.0001$ , unpaired t test for A, Welch's t test for 1.5 and 2-fold stages in B, Mann-Whitney test for 3-fold stage in C. Scale bars: 5  $\mu$ m.



**Fig.3: Loss of ELT-2 and ELT-7 leads to the presence of supernumerary intestinal cells.** **A.** (*left*) Maximum Z-projections from confocal images of 2-fold embryos expressing the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry* and treated with control or *elt-2* RNAi. (*right*) quantification of the number of intestinal nuclei in those embryos. ns: non-significant ( $P>0.05$ , Mann-Whitney test). **B.** (*left*) Maximum Z-projections from confocal images of 2-fold *elt-7(tm840)* embryos expressing *end1p::H1::mCherry* and treated with control or *elt-2* RNAi. The *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryo shown has 25 intestinal nuclei (only 23 are visible on the maximal projection). In this embryo, the posterior nuclei (circled with dotted lines) appear smaller than other intestinal nuclei, suggesting that they may result from supernumerary intestinal divisions. (*right*) Quantification of the number of intestinal nuclei in *elt-7(tm840)* early lima bean and 2-fold embryos treated with control or *elt-2* RNAi. ns: non-significant ( $P>0.05$ ), \*\*\*\* $P<0.0001$  (Mann-Whitney test). In A and B, dashed lines outline the extent of the embryos. **C.** (*left*) Confocal images taken at three different focal planes of *elt-7(tm840)* 2-fold embryos expressing the intestinal membrane marker *end1p::GFP::CAAX* and treated with control or *elt-2* RNAi. Dotted lines outline cells from the most anterior (white) and posterior (magenta) intestinal rings. *elt-7(tm840)* embryos have 20 intestinal cells, with 4 anterior and 4 posterior cells arising from the late intestinal divisions occurring between E16 and E20 stage. The *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryo shown has 23 intestinal cells, with 7 small posterior cells that may result from late supernumerary divisions. (*right*) Quantification of the number of intestinal cells in *elt-7(tm840)* 2-fold embryos treated with control or *elt-2* RNAi. \*\*\*\* $P<0.0001$  (Mann-Whitney test). Scale bars: 5  $\mu\text{m}$ .

**Fig.4: Loss of ELT-2 and ELT-7 leads to supernumerary divisions in the posterior region of the intestine.** Schematic representations (upper row) and confocal images showing the first and last rings of E16 to E21 stage *elt-7(tm840)* embryos treated with *elt-2* RNAi and expressing the intestinal membrane marker *end1p::GFP::CAAX* and the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry*. White/cyan and red/yellow circles highlight the membrane of the enterocytes from the first and last intestinal ring, respectively, before (E16) and after (E17 to E20) their division. The first division of the E16 to E20 transition was used as reference for division timing ( $t=0$ ). In this embryo, first ring divisions

occur between t=21 to t=27 min (cyan cells) and t=39 to t=42 min (white cells; at t=42 min 2 focal planes are shown to make the two white daughter cells visible). Last ring divisions occur at t=0 (red cells) and between t=30 to t=39 min (yellow cells). Later, between t=132 to t=135, one of the yellow daughter cells undergoes a supernumerary division. Scale bars: 5  $\mu$ m

**Fig.5: Loss of ELT-2 and ELT-7 is associated with the late accumulation of CYB-1::GFP in posterior enterocytes. A-B.** Schematic representations (upper row) and maximum Z-projections (A) or single focal planes (B) from confocal images showing the first and last rings of E16 to E20 stage *elt-7(tm840)* embryos treated with control (A) or *elt-2* (B) RNAi and expressing the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry* and CYB-1::GFP. White/cyan and red/yellow circles highlight the nuclei of the first and last intestinal ring enterocytes, respectively, before (E16) and after (E17 to E20) their division. The first division of the E16 to E20 transition was used as reference for division timing (t=0). In the *elt-7(tm840)* embryo (A), first ring divisions occur at t=0 (white nuclei) and between t=6 to t= 24 min (cyan nuclei). Last ring divisions occur at t=6 min (yellow nuclei) and between t=6 to t= 24 min (red nuclei). CYB-1::GFP accumulates specifically in the first and last ring enterocytes prior to their division and does not reappear in their daughter cells. In the *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryo (B), first ring divisions occur at t=24 min (white nuclei) and t= 36 min (cyan nuclei). Last ring divisions occur at t=0 (red and yellow nuclei). At t=36 min, CYB-1::GFP starts to reappear in one cell of ring 9 (one of the red nuclei); at t=66 min, it is clearly visible in all cells from ring 8 and 9 (2 red and 2 yellow nuclei, 2 focal planes are shown to make the 4 nuclei visible). One of the red and one of the yellow daughter cells undergo a supernumerary division at t= 81 min and t=90 min, respectively. The other red and yellow daughter cells both undergo a supernumerary division immediately after (not shown). Scale bars: 5  $\mu$ m

**Fig.6: Loss of ELT-2 and ELT-7 is associated with the loss of GFP::CKI-1 accumulation in posterior enterocytes. A-D.** Schematic representations (upper rows) and confocal images showing the first and last rings of E16 to E20 stage *elt-7(tm840)* embryos treated with control (A-B) or *elt-2* (C-D) RNAi and expressing the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry* and GFP::CKI-1. A single *elt-7(tm840)*

embryo and a single *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryo are shown in A and B and in C and D, respectively. Focal planes were chosen to display the anterior (A and C) or posterior (B and D) cell divisions. White/cyan and yellow circles highlight the nuclei of one cell of the first and last intestinal ring enterocytes, respectively, before (E16) and after (E17 to E20) their division. The first division of the E16 to E20 transition was used as reference for division timing ( $t=0$ ). In the *elt-7(tm840)* embryo, one of the first ring divisions (A) occurs at  $t=0$  (white nuclei, only one daughter cell visible in the chosen focal plane). Division of the other anterior cell (cyan nucleus) occurs in a different focal plane and is not shown here. GFP::CKI-1 starts to be visible in the white mother cell nucleus prior to division ( $t=-9$  min) and accumulates in the nucleus of the two white daughter cells after the division ( $t=6$  min) and then progressively disappears until it is not any longer visible ( $t=66$  min). One of the last ring divisions (B) occurs between  $t=3$  and  $t=6$  min (yellow nuclei). Division of the other posterior cell (red nucleus) occurs in a different focal plane and is not shown here. GFP::CKI-1 accumulates in the nucleus of the two yellow daughter cells after the division ( $t=9$  min) and then progressively disappears until it is not any longer visible ( $t=33$  min). In the *elt-7(tm840); elt-2(RNAi)* embryo, one first ring division (C) occurs at  $t=18$  min (cyan nuclei). Division of the other anterior cell (white nucleus) occurs in a different focal plane and is not shown here. GFP::CKI-1 accumulates in the nucleus of the two cyan daughter cells after the division ( $t=24$  min, 2 focal planes are shown to make the two daughter nuclei visible) and then progressively disappears until it is not any longer visible ( $t=66$  min). One last ring division (D) occurs at  $t=0$  (yellow nuclei). Division of the other posterior cell (red nucleus) occurs in a different focal plane and is not shown here. GFP::CKI-1 does not accumulate in the nucleus of the two yellow daughter cells right after the division ( $t=12$  min). It eventually becomes visible in one of the two yellow daughters at  $t=81$  min. This cell then undergoes a supernumerary division at  $t=87$  min and its daughters then accumulate GFP::CKI-1 in the nucleus ( $t=96$  min). Scale bars: 5  $\mu\text{m}$ .

**Fig.S1: The *cdc-25.1(rr31)* gain of function mutation leads to the acceleration of intestinal cell divisions and to the appearance of an additional division.** Schematic representation of intestinal divisions in control and *cdc-25.1(rr31)* embryos. In control embryos, the E blastomeres and all its

descendants divide to successively give rise to the E2, E4, E8 and E16 stages. The most anterior and posterior cells then divide one more time to form the E20 stage. The E16 stage is reached before the start of elongation while 2-fold embryos are at the E20 stage. Polarization and brush border formation occur at the E16 and 2-fold stage, respectively. In *cdc-25.1(rr31)* embryos, intestinal cells divide faster and one more time than in control embryos, thereby containing 32 intestinal cells before elongation and about 40 intestinal cells after elongation.

**Fig.S2: Loss of CKI-1 leads to the appearance of a late supplementary division of intestinal cells. A.**

Schematic representation of intestinal divisions in control embryos and in embryos lacking CKI-1. Intestinal cells divide at the same speed and both embryos have 16 intestinal cells at the beginning of elongation; in embryos lacking CKI-1, all intestinal cells then undergo an additional late division after the E16 stage so that embryos display around 32 cells during elongation (Kostić and Roy, 2002). **B.** Maximum Z-projections from confocal images of auxin-treated embryos expressing the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry* and either *elt-2p::TIR-1* (Control) or both *elt-2p::TIR-1* and CKI-1::degron::BFP (CKI-1::degron) at the indicated embryonic stages and quantification of intestinal nuclei number in those embryos. Asterix indicate non intestinal cells that occasionally express *end1p::H1::mCherry*. ns: non-significant ( $P>0.05$ ), \*\*\*\* $P<0.0001$ , Mann-Whitney test. Scale bars: 5  $\mu\text{m}$ .

**Fig.S3: Intestinal polarization and brush border formation are not required to arrest intestinal cell divisions. A.**

Maximum Z-projections from confocal images of comma embryos expressing GFP::degron::PAR-3 and *elt-2p::TIR-1* and treated 30 min with DMSO or auxin. In the presence of auxin, PAR-3 is specifically degraded in intestinal cells. **B.** Maximum Z-projections from confocal images of auxin-treated 2-fold embryos expressing the intestinal nuclear marker *elt-2p::NLS::GFP* and either *elt-2p::TIR-1* (Control) or both *elt-2p::TIR-1* and GFP::degron::PAR-3 and quantification of the number of intestinal nuclei in those embryos. ns: non-significant ( $P>0.05$ , Mann-Whitney test). **C.** Maximum Z-projections from confocal images of 2-fold embryos expressing ACT-5::GFP and treated with control

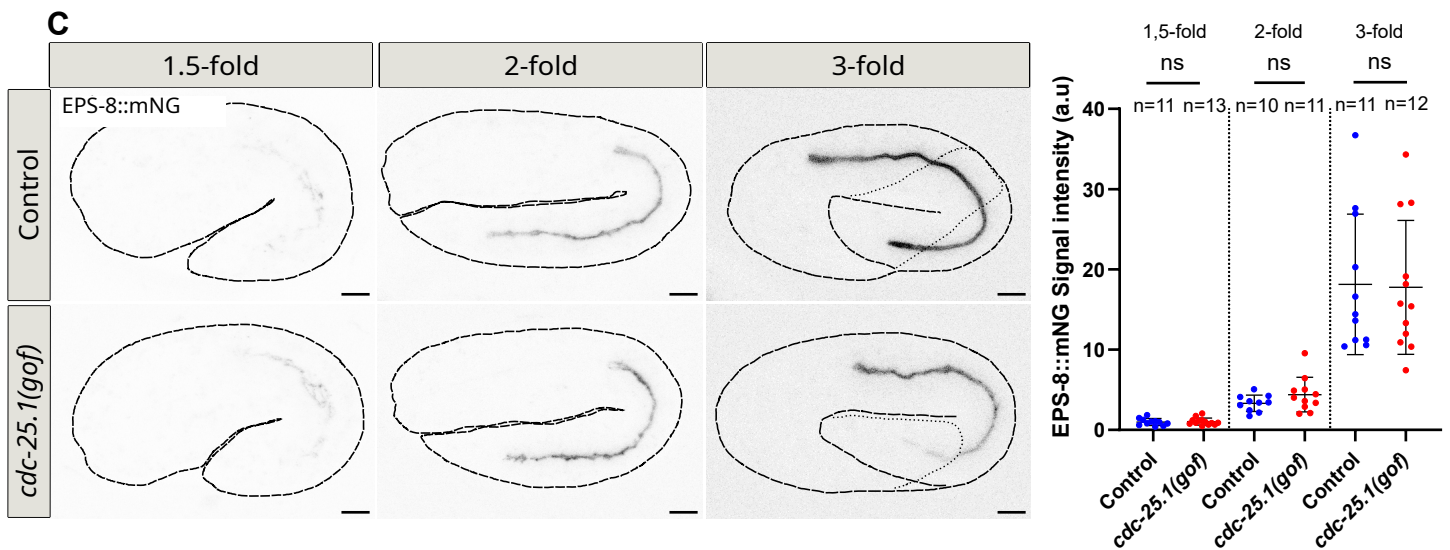
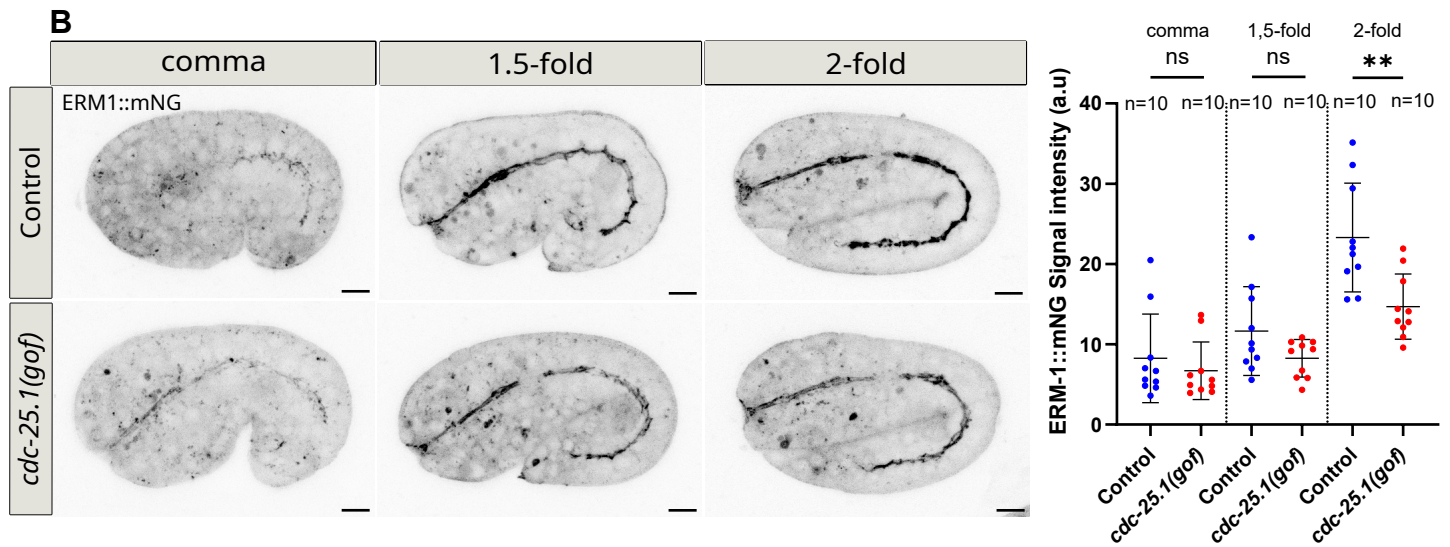
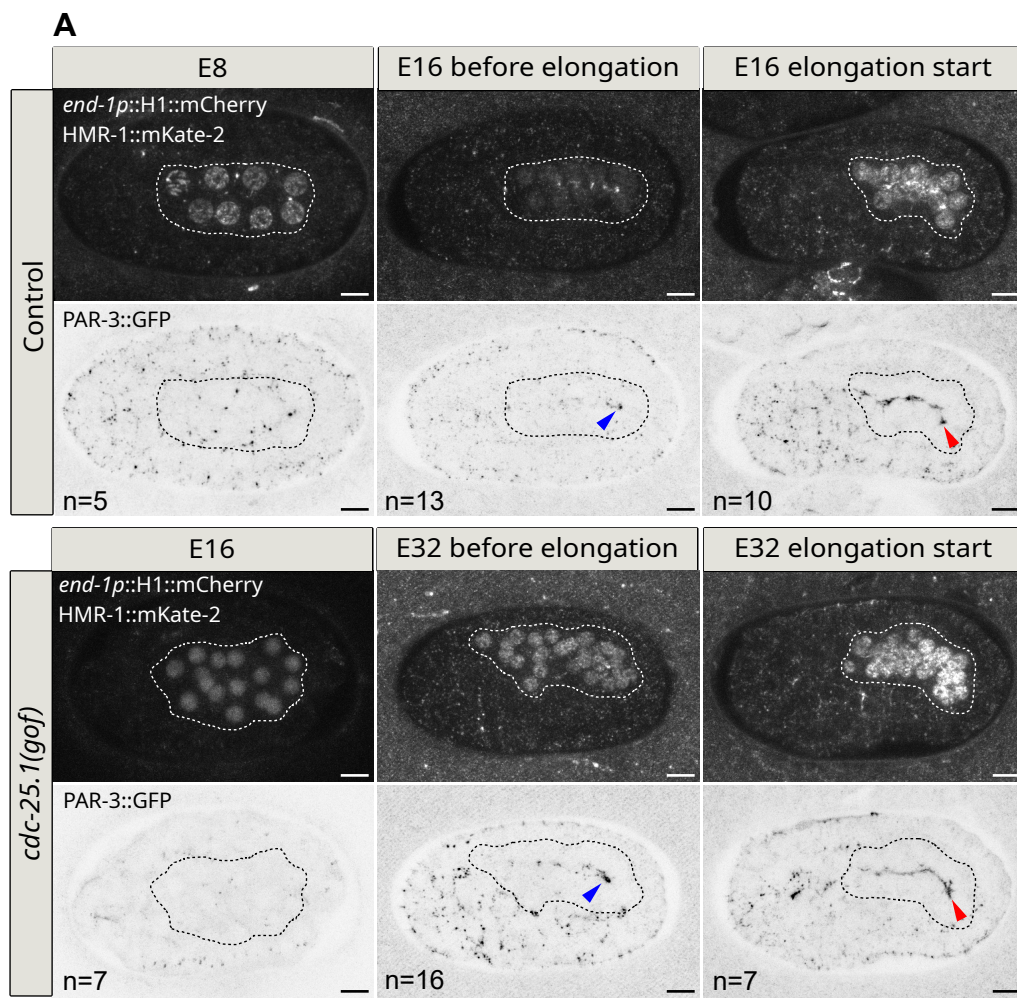
and *act-5* RNAi. ACT-5::GFP is efficiently depleted in embryos treated by *act-5* RNAi. **D** Maximum Z-projections from confocal images of 2-fold embryos expressing the intestinal specific nuclear marker ELT-2::mNG and treated with control or *act-5* RNAi and quantification of the number of intestinal nuclei in those embryos. ns: non-significant ( $P>0.05$ , Mann-Whitney test). Dashed lines outline the extent of the embryos. Scale bars: 5  $\mu$ m.

**Fig.S4: Loss of ELT-2 leads to strong intestinal defects. A-B.** Maximum Z-projections from confocal images of 2-fold embryos expressing the intestinal nucleic marker ELT-2::mNG and treated with control or *elt-2* RNAi. Dashed lines outline the extent of the embryos **B.** Super-resolution confocal images of the intestine in 3-fold embryos expressing ERM-1::mNG and treated with control or *elt-2* RNAi. In control embryos, the intestine is characterized by a regular lumen and a well-defined brush border; on the contrary, *elt-2* RNAi treated embryos display discontinuities of the intestinal lumen (white arrowhead) and a poorly structured brush border. Scale bars: 5  $\mu$ m.

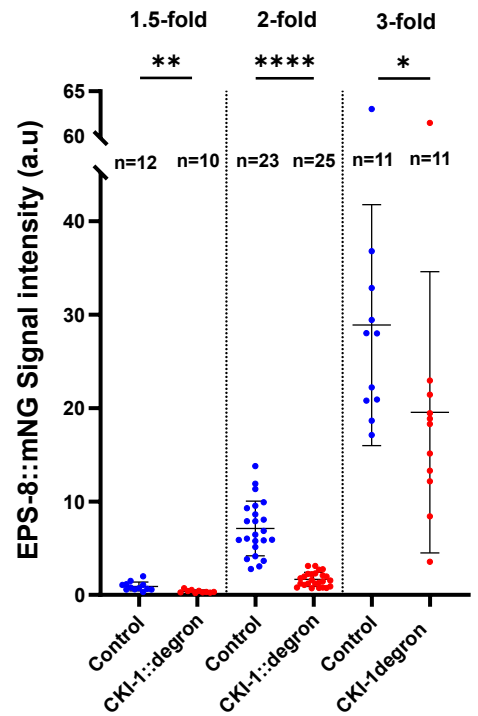
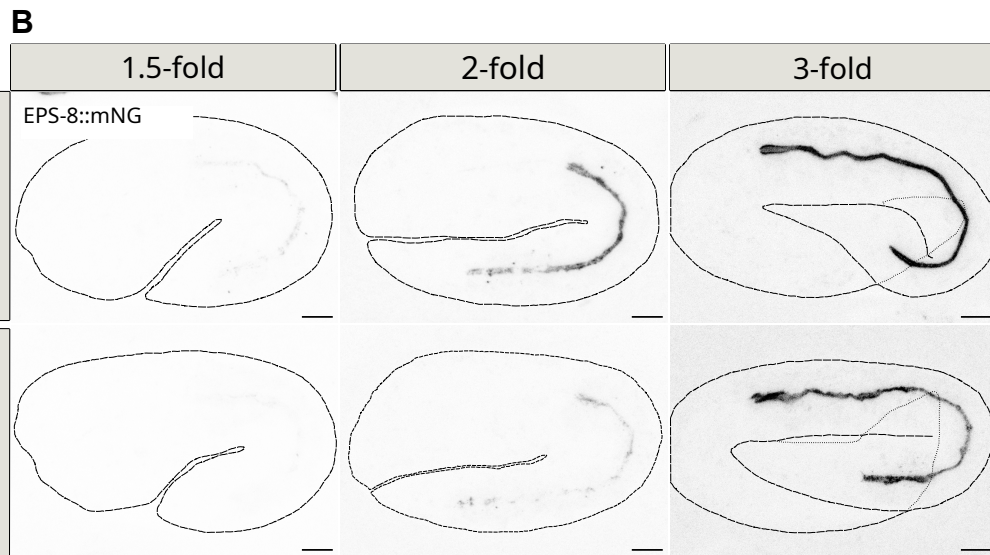
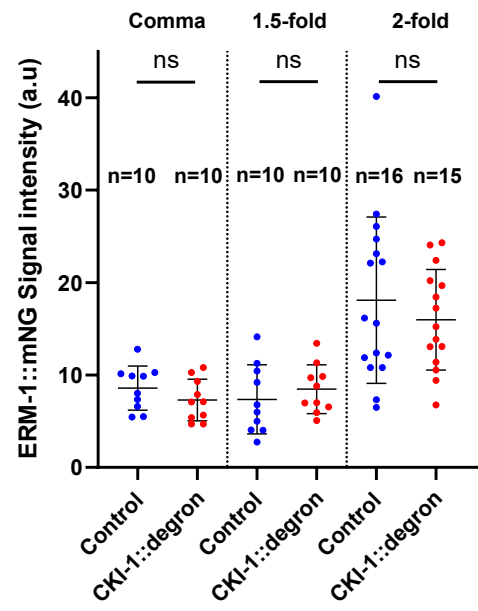
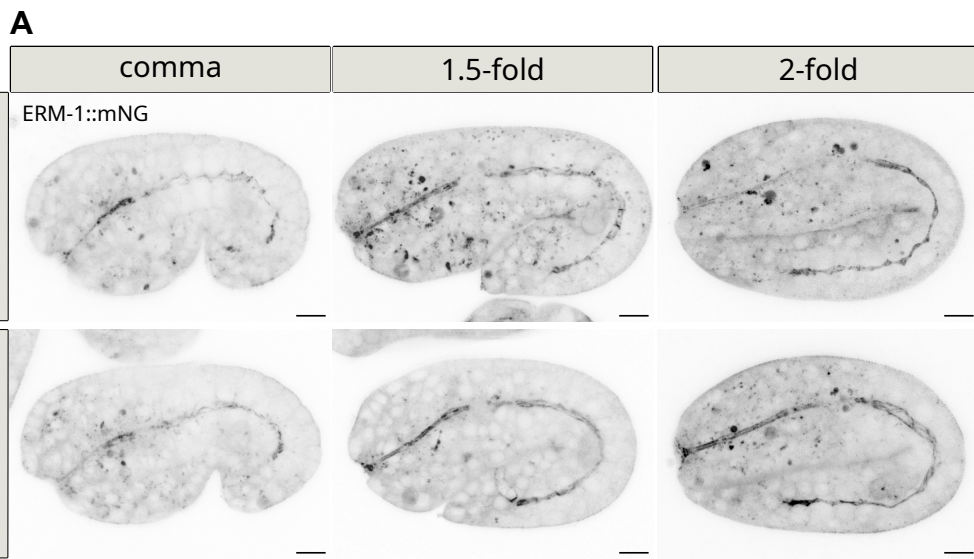
**Fig.S5: Expression pattern of CYB-1::GFP in control embryos.** Schematic representations (upper row) and maximum Z-projections from confocal images showing the first and last rings of a E16 to E20 stage embryo expressing the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry* and CYB-1::GFP. White/cyan and red/yellow circles highlight the nuclei of the first and last intestinal ring enterocytes, respectively, before (E16) and after (E17 to E20) their division. The first division of the E16 to E20 transition was used as reference for division timing ( $t=0$ ). In this embryo, the two first ring divisions occur at  $t=0$  (white and cyan nuclei). Last ring divisions occur at  $t=9$  min (yellow nuclei) and  $t= 27$  min (red nuclei). CYB-1::GFP accumulates specifically in the first and last ring enterocytes prior to their division and does not reappear in their daughter cells. Scale bars: 5  $\mu$ m.

**Fig.S6: Expression pattern of GFP::CKI-1 in control embryos. A-B.** Schematic representations (upper rows) and confocal images showing the first and last rings of a E16 to E20 stage embryo expressing the intestinal nuclear marker *end1p::H1::mCherry* and GFP::CKI-1. The same embryo is shown in A and B. Focal planes were chosen to display the anterior (A) or posterior (B) cell divisions. White and yellow

circles highlight the nuclei of one cell of the first and last intestinal ring enterocytes, respectively, before (E16) and after (E17 to E20) their division. The first division of the E16 to E20 transition was used as reference for division timing ( $t=0$ ). In this embryo, one first ring division (A) occurs at  $t=3$  min (white nucleus). Division of the other anterior cell (cyan nucleus) occurs in a different focal plane and is not shown here. GFP::CKI-1 starts to be visible in the white mother cell just prior to division ( $t=-3$  min) and accumulates in the nucleus of the two white daughter cells after the division ( $t=9$  min) and then progressively disappears until it is not any longer visible ( $t=51$  min). One last ring division (B) occurs at  $t=0$  (yellow nuclei, 2 focal planes are shown to make the two daughter nuclei visible). Division of the other posterior cell (red nucleus) occurs in a different focal plane and is not shown here. GFP::CKI-1 accumulates in the nucleus of the two yellow daughter cells just after the division ( $t=9$  min) (2 focal planes are shown to make the yellow daughter nuclei visible) and then progressively disappears until it is not any longer visible ( $t=57$  min). Scale bars:  $5 \mu\text{m}$ .

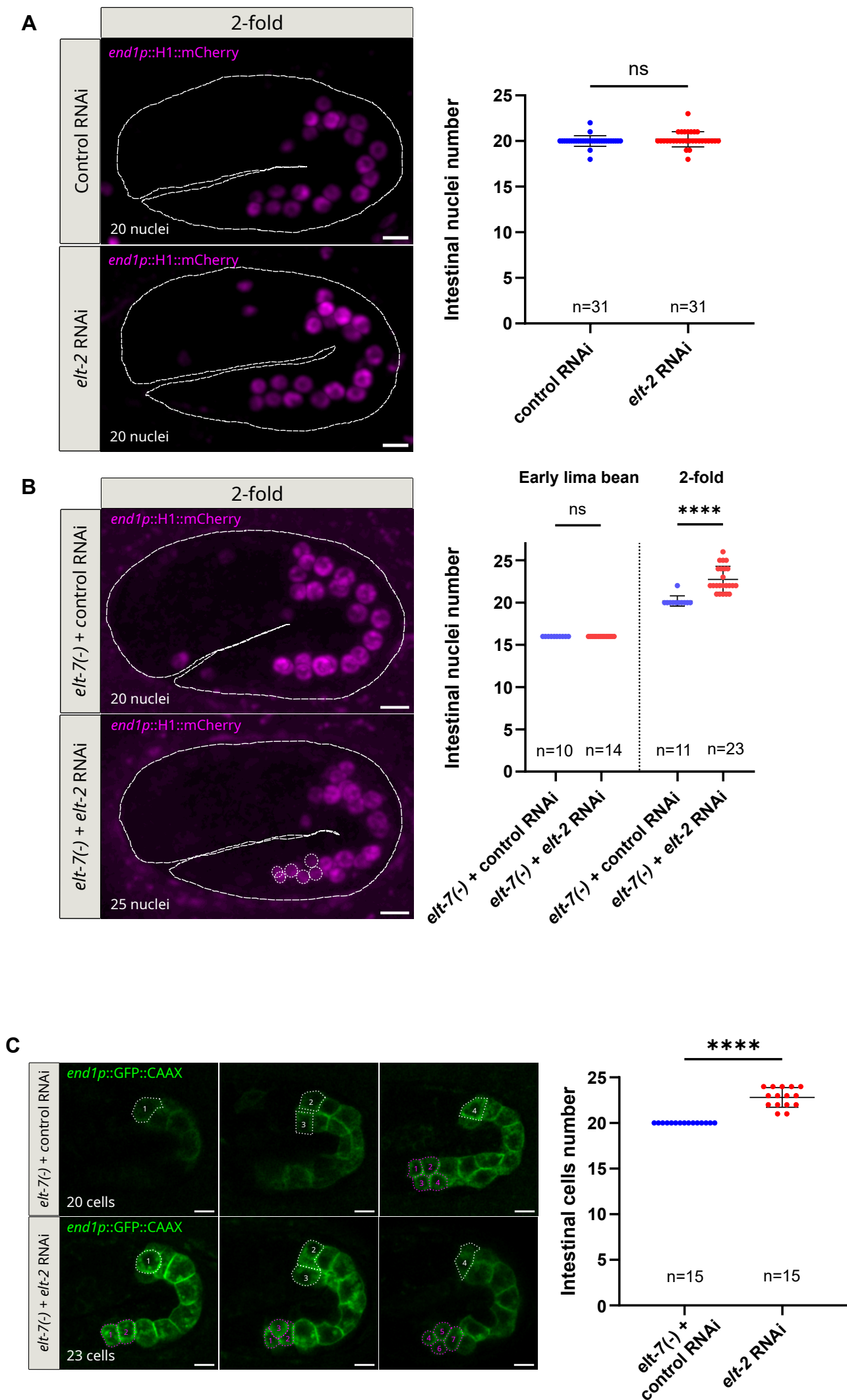


**Figure 1**



**Figure 2**





**Figure 3**

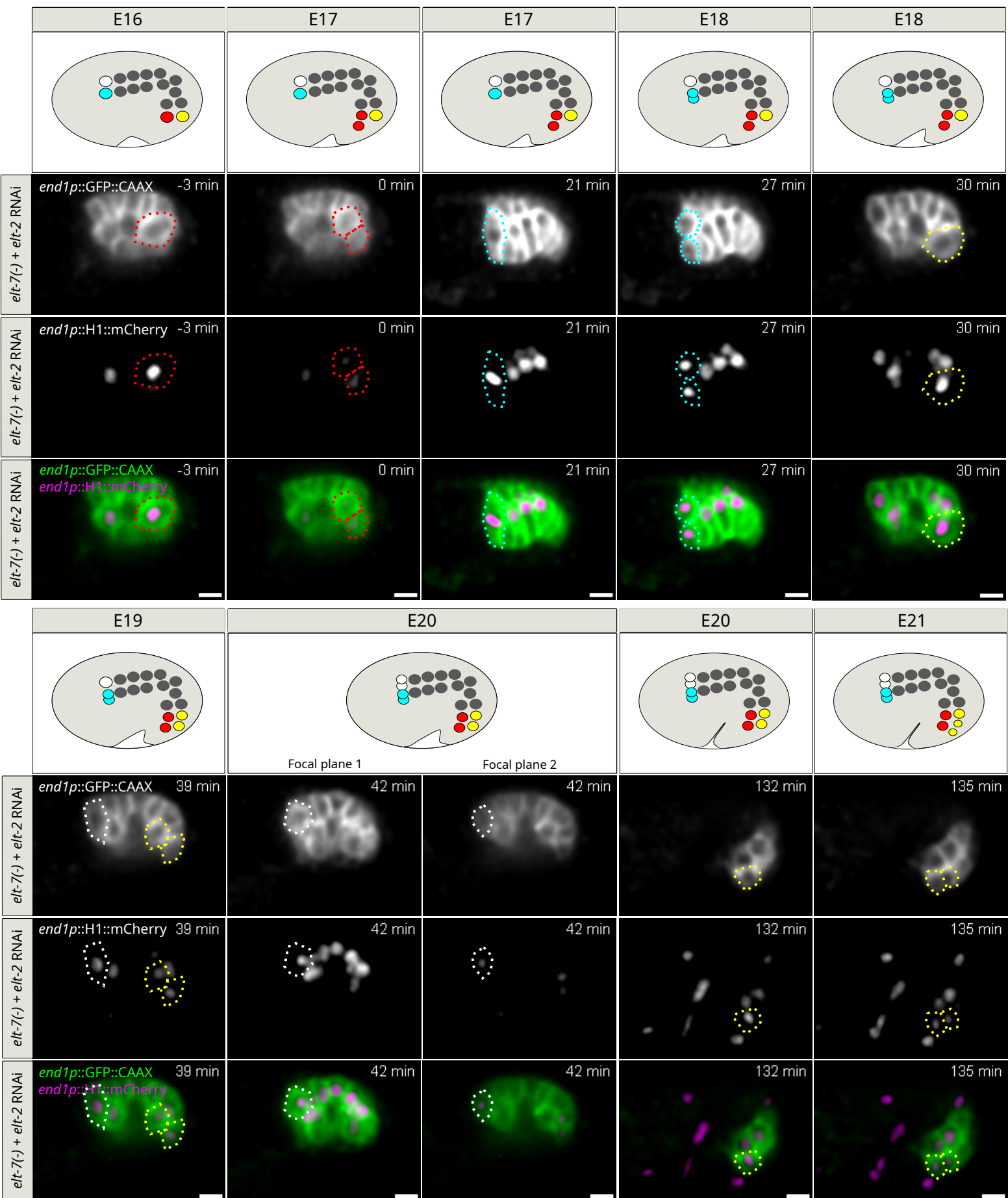
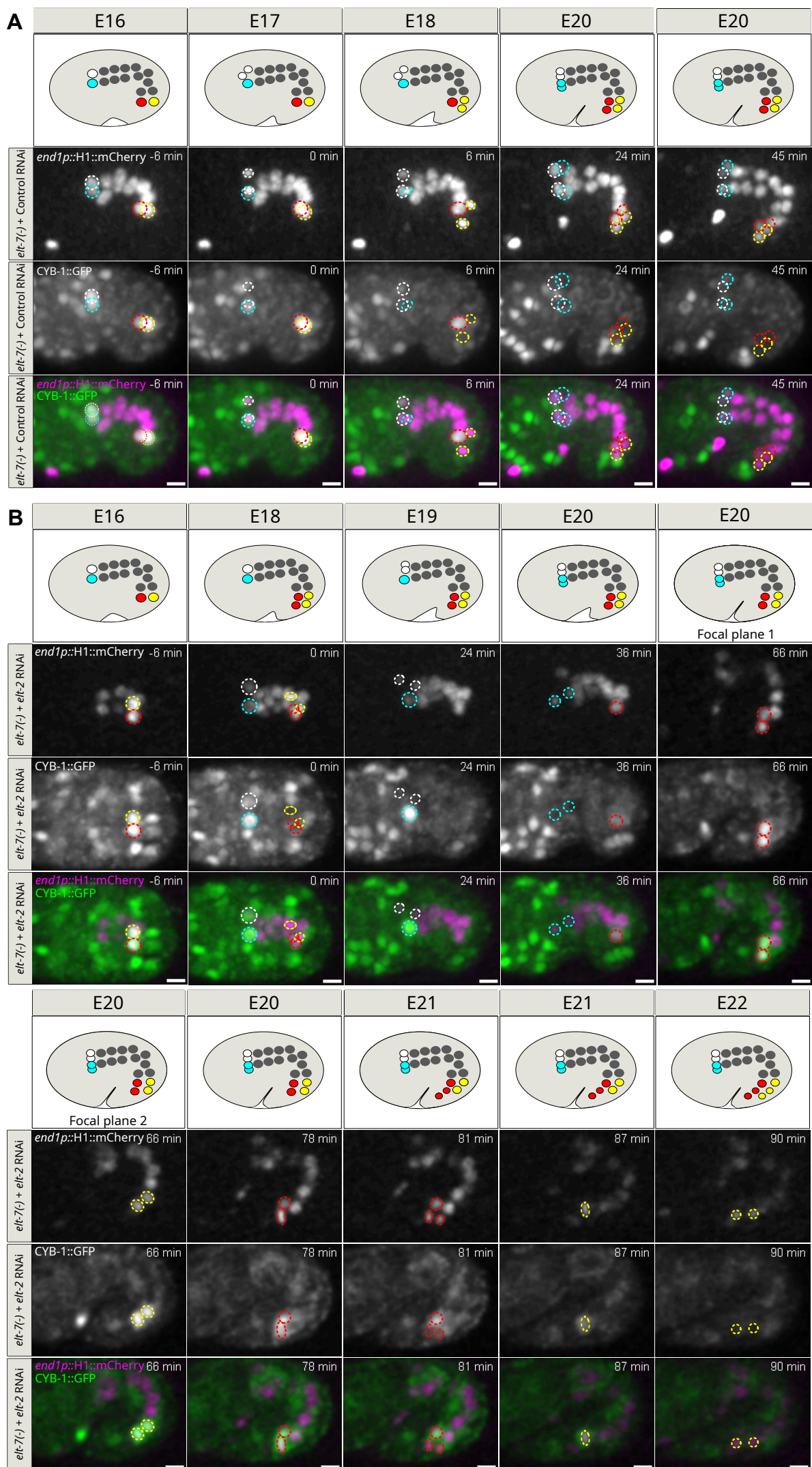
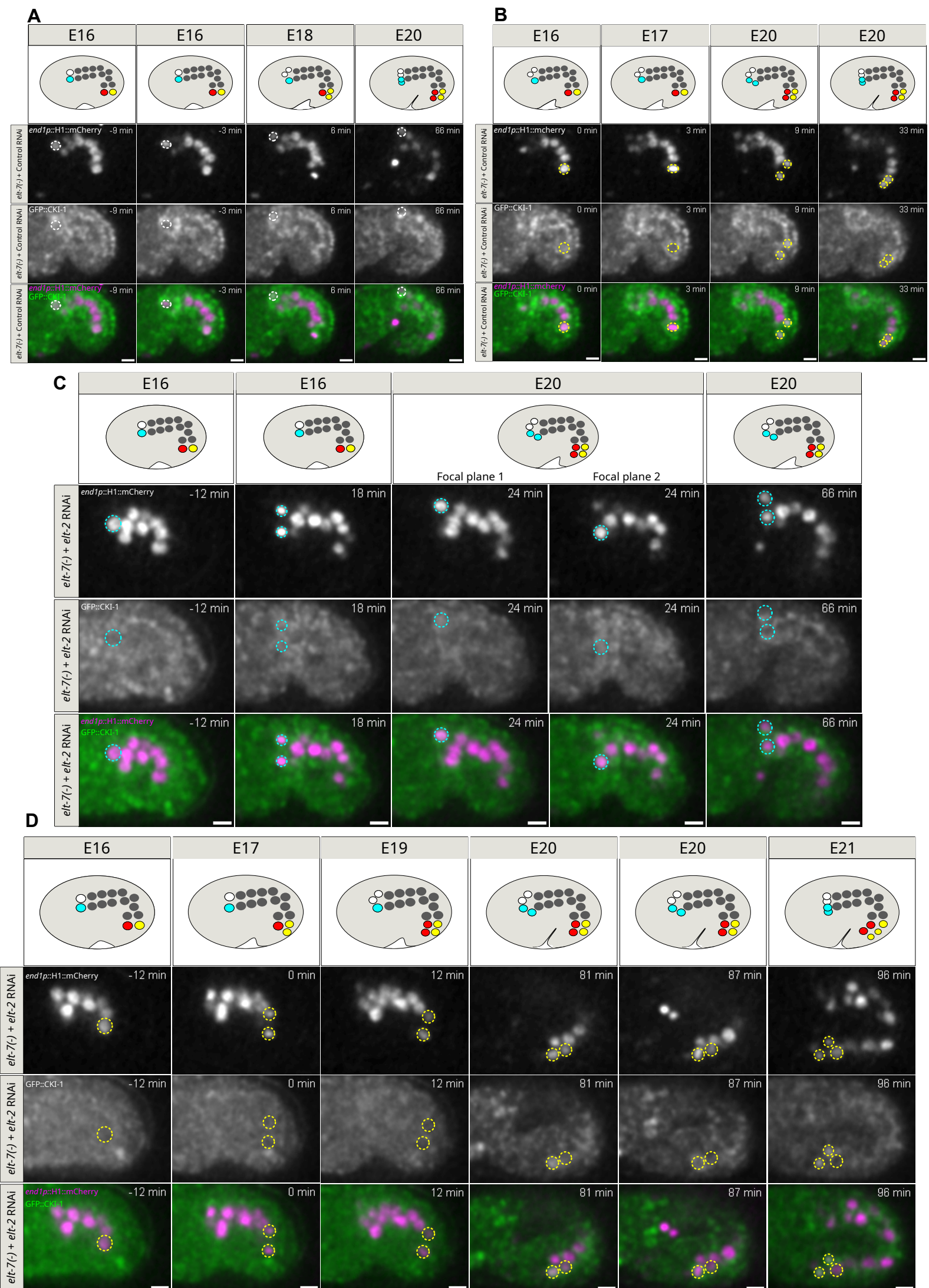


Figure 4



**Figure 5**



**Figure 6**

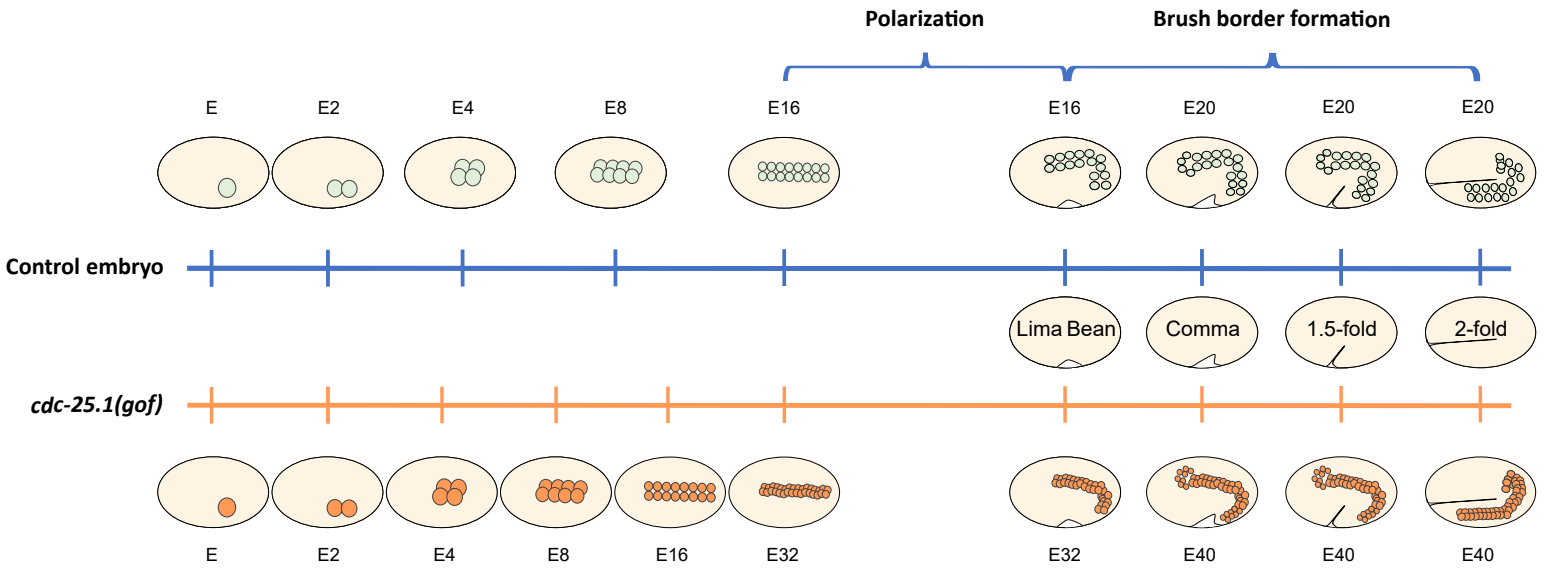
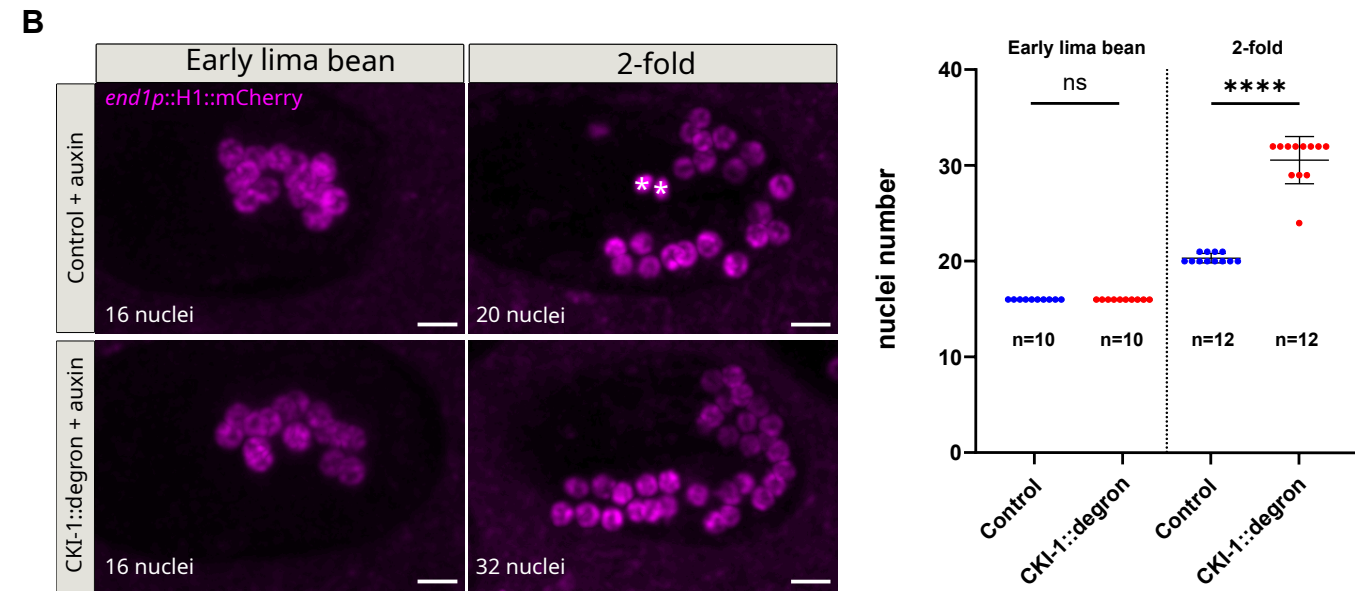
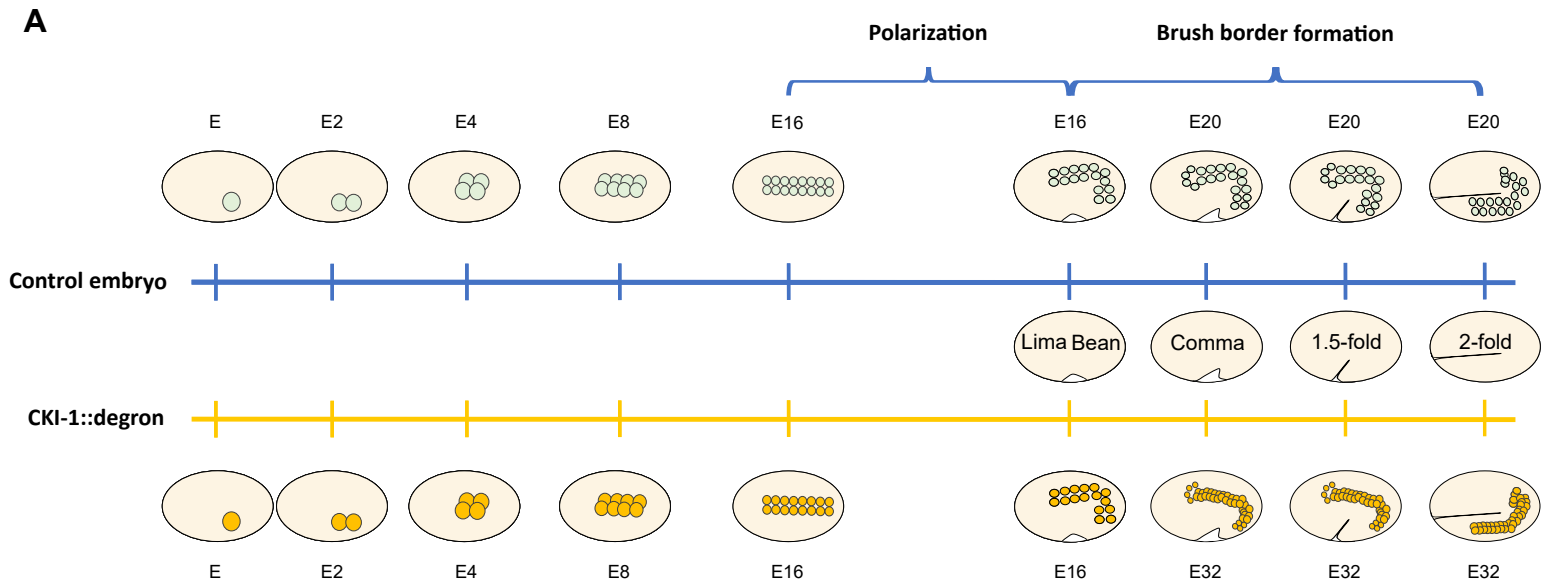
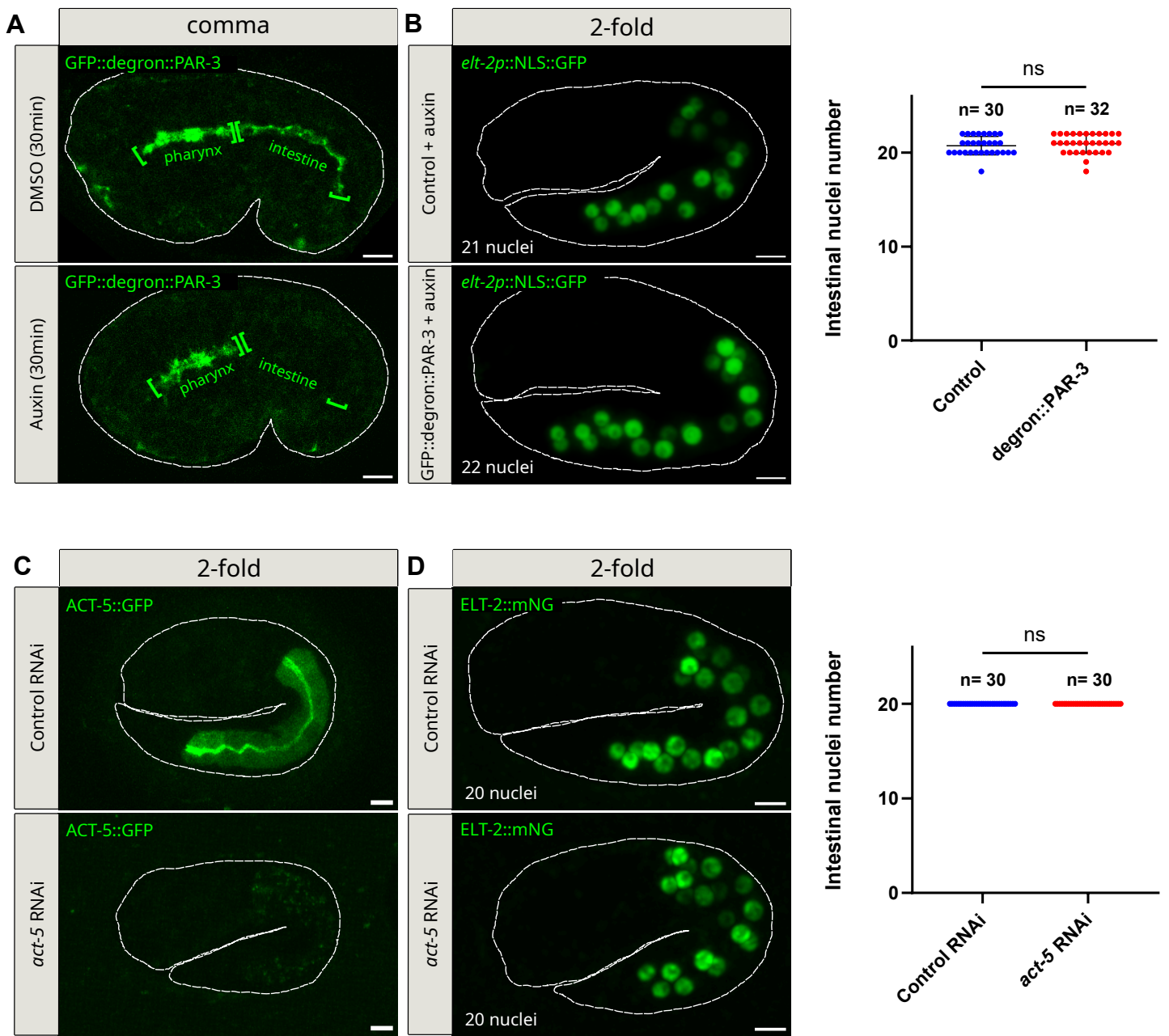


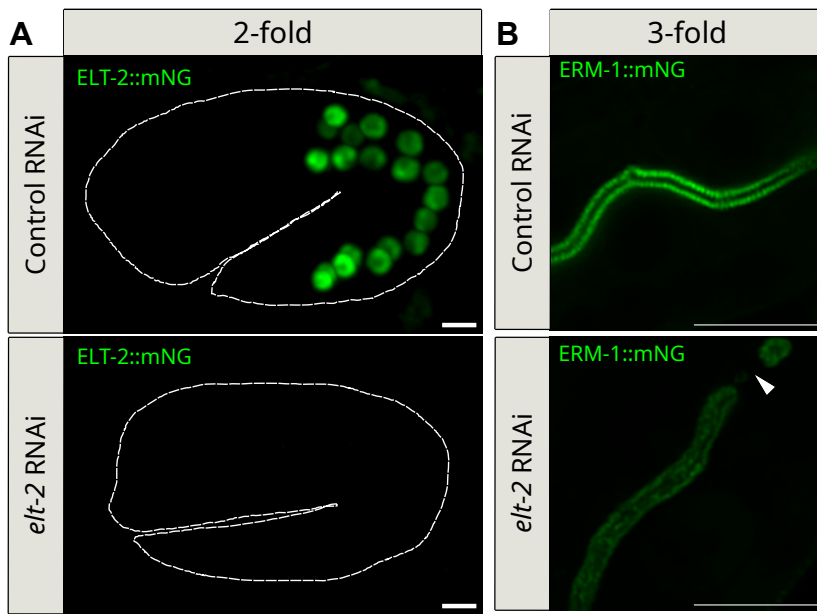
Figure S1



**Figure S2**

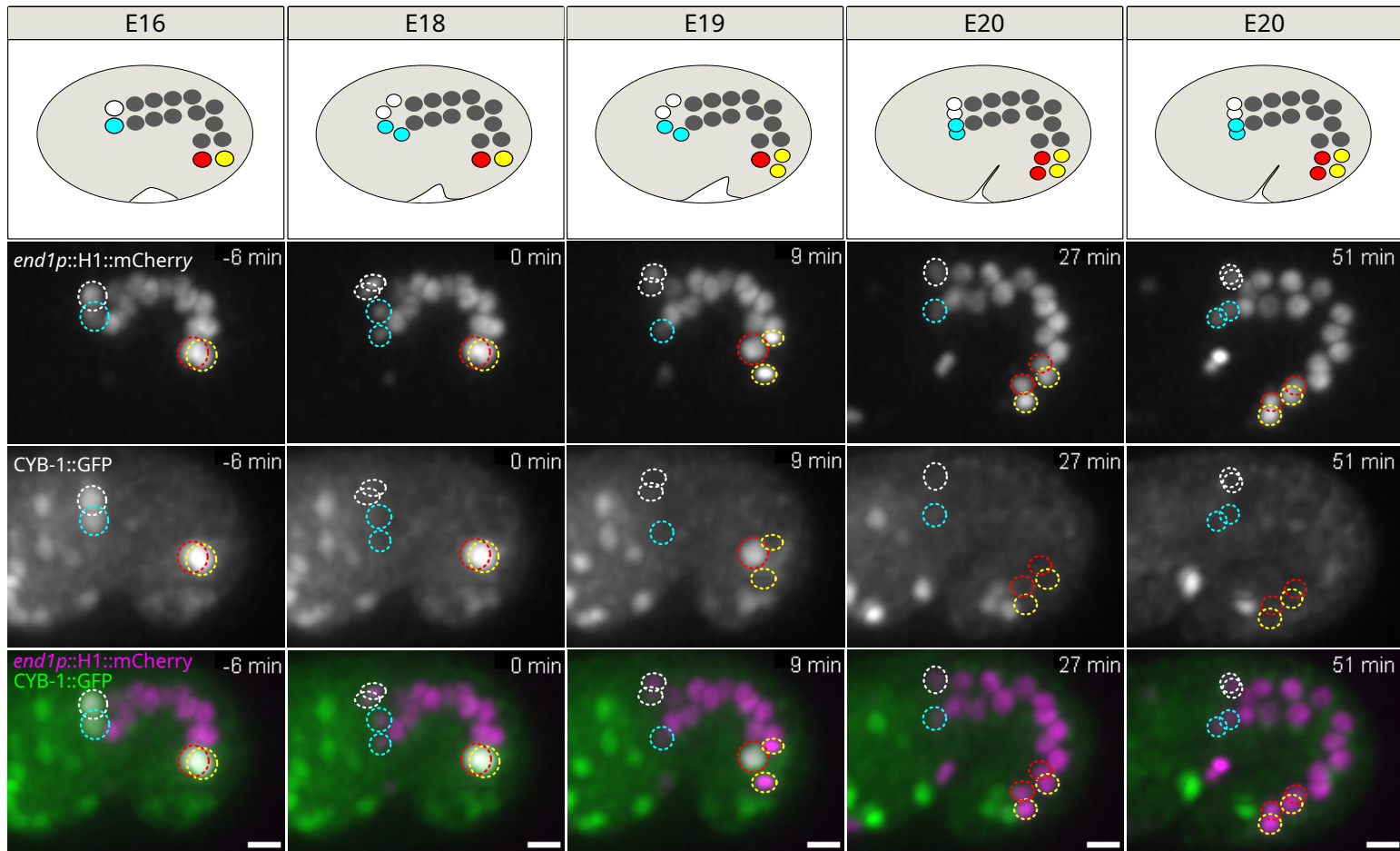


**Figure S3**

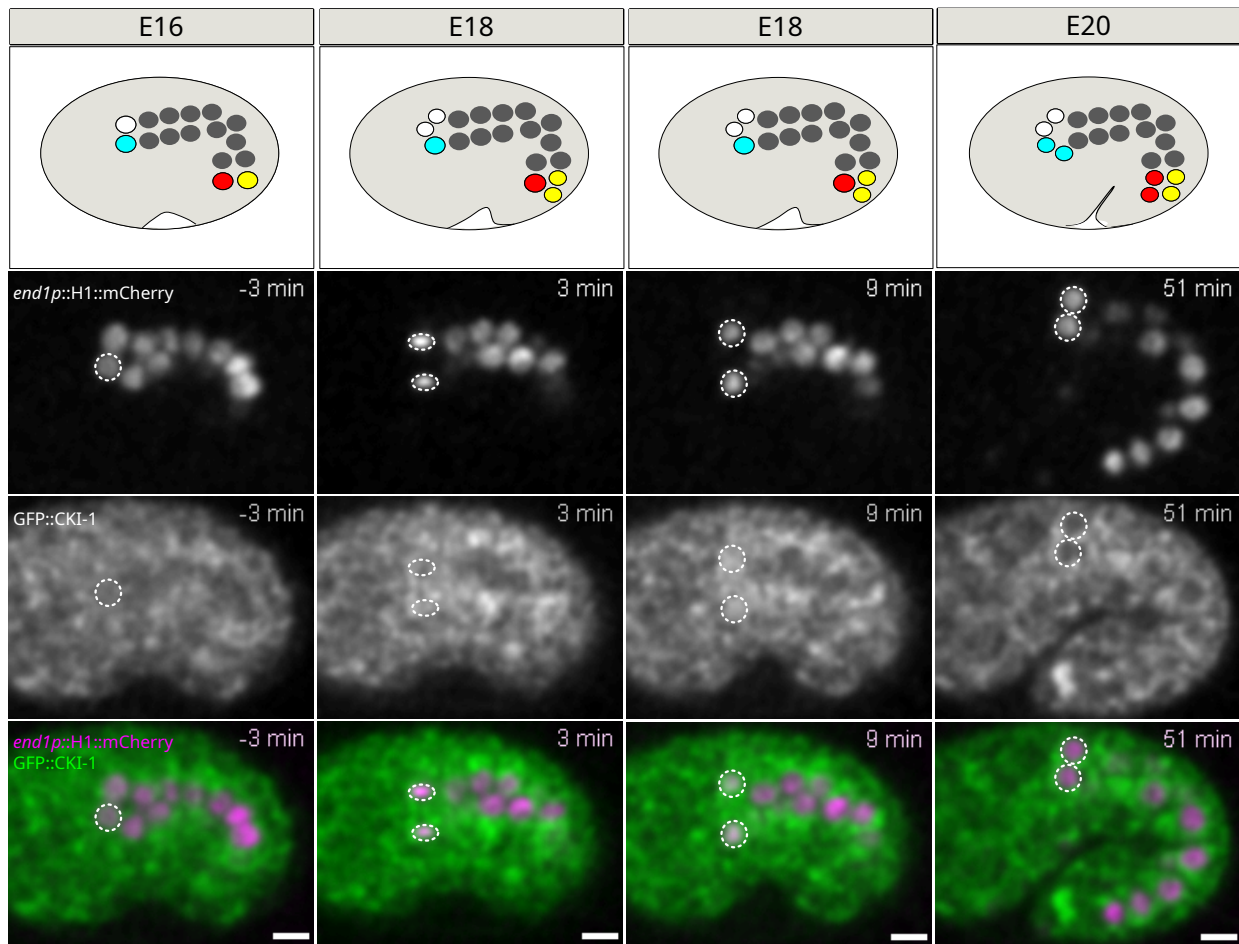
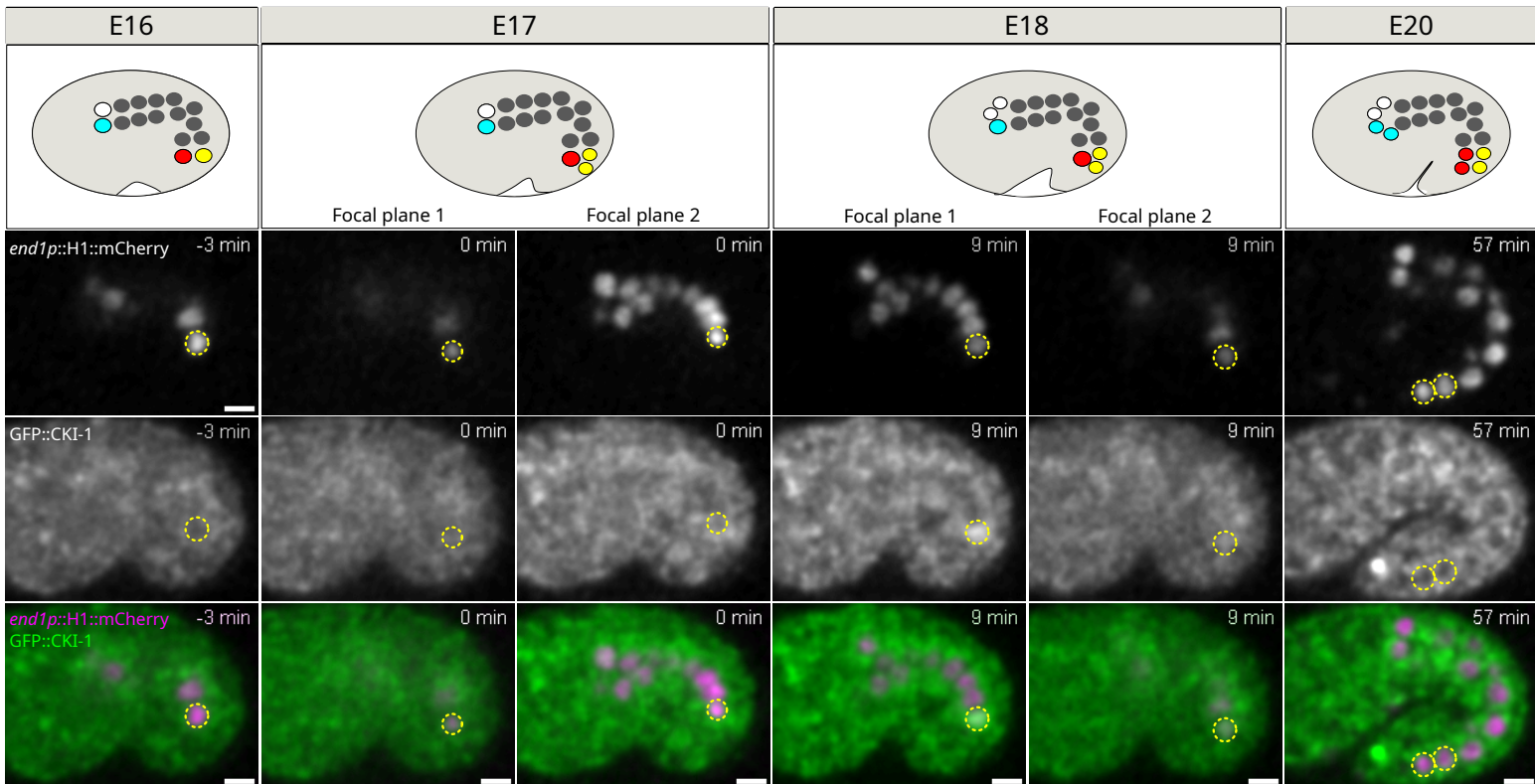


**Figure S4**





**Figure S5**

**A****B****Figure S6**

**Table S1: *C. elegans* strains used in this study**

Strain	Complete genotype	Source	Figures
FL676	<i>cdc-25.1(rr31) hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; par-3(it298[par-3::gfp]) III; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>hmr-1(cp57)</i> from OX704 (Soto lab (Sasidharan et al., 2018); originally from LP238, Goldstein lab) <i>par-3(it298)</i> from KK1216 (Kemphues lab) <i>stls10220</i> from RW10234 (Waterston lab, via CGC)	Fig.1A
FL677	<i>hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; par-3(it298[par-3::gfp]) III; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.1A
FL678	<i>erm-1(bab59[erm-1::mNG<sup>3xFlag</sup>]) cdc-25.1(rr31) hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>erm-1(bab59)</i> from FL378 (Bidaud-Meynard et al., 2019)	Fig.1B
FL697	<i>erm-1(bab59[erm-1::mNG<sup>3xFlag</sup>]) I, hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.1B
FL644	<i>cdc-25.1(rr31) I, hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; eps-8(bab140[eps-8::mNG]) IV</i>	This study <i>eps-8(bab140)</i> from FL290 (Bidaud-Meynard et al., 2021)	Fig.1C
FL552	<i>hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; eps-8(bab140[eps-8::mNG]) IV</i>	This study	Fig.1C
FL748	<i>erm-1(bab59[erm-1::mNG<sup>3xFlag</sup>]) I; mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3' UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>mibls48</i> from BOX273 (Boxem lab (Castiglioni et al., 2020))	Fig.2A
FL763	<i>erm-1(bab59[erm-1::mNG<sup>3xFlag</sup>]) I; cki-1(bab393[cki-1::AID::tagBFP2]) II; mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3' UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>cki-1(bab393)</i> from FL733 (this study)	Fig.2A
FL755	<i>eps-8(bab140[eps-8::mNG]) mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3' UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.2B
FL764	<i>cki-1(bab393[cki-1::AID::tagBFP2]) II; eps-8(bab140[eps-8::mNG]) IV mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3' UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.2B
FL630	<i>stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.3A
FL734	<i>elt-7(tm840) V; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>elt-7(tm840)</i> from MS433 (Mitani lab, via Maduro lab, (McGhee et al., 2007))	Fig.3B

FL747	<i>elt-7(tm840) zuls70[end-1p::GFP::CAAX] V; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>zuls70</i> from MS2293 (Maduro lab (Choi et al., 2017), originally from Nance lab (Wehman et al., 2011))	Fig.3C Fig.4
FL760	<i>cyb-1(tn1806[cyb-1::GFP::tev::3xflag]) IV; elt-7(tm840) V; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>cyb-1(tn1806)</i> from DG4569 (Greenstein lab, via CGC (Spike et al., 2022))	Fig.5
FL758	<i>cki-1(bmd132[GFP::LoxP::cki-1::3xFLAG]) II; elt-7(tm840) V; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study <i>cki-1(bmd132)</i> from DQM455 (Matus lab, via CGC (Adikes et al., 2020))	Fig.6
FL741	<i>mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3'UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.S2B
FL753	<i>cki-1(bab393[cki-1::AID::tagBFP2]) II; mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3'UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.S2B
FL511	<i>par-3(mib68[eGFP-Lox2272::aid::par-3b+eGFP(nolntrons)-LoxP::aid::par-3g]) III; mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3'UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV</i>	This study <i>par-3(mib68)</i> from BOX290 (Boxem lab (Castiglioni et al., 2020))	Fig.S3A
FL605	<i>hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; par-3(mib68[eGFP-Lox2272::aid::par-3b+eGFP(nolntrons)-LoxP::aid::par-3g]) III; mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3'UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; rrls1[elt-2p::NLS::GFP::LacZ::unc-54 3'UTR + unc-119(+)] X</i>	This study <i>rrls1</i> from MR142 (Roy lab, via CGC (Kostić and Roy, 2002))	Fig.S3B
FL607	<i>hmr-1(cp57[hmr-1::mKate2]) I; mibls48[elt-2p::TIR-1::tagBFP2-Lox511::tbb-2-3'UTR, IV:5014740-5014802(cxTi10882 site)] IV; rrls1[elt-2p::NLS::GFP::LacZ::unc-54 3'UTR + unc-119(+)] X</i>	This study	Fig.S3B
VJ268	<i>fgEx12[act-5p::act-5::GFP + unc-119(+)] II; unc-119(ed3) III</i>	Gobel lab (Zhang et al., 2012)	Fig.S3C
FL660	<i>elt-2(bab354[elt-2::mNG]) X</i>	(Demouchy et al., 2024)	Fig.S3D Fig.S4A
FL378	<i>erm-1(bab59[erm-1::mNG^3xFlag]) I</i>	(Bidaud-Meynard et al., 2019)	Fig.S4B
FL752	<i>cyb-1(tn1806[cyb-1::GFP::tev::3xflag]) IV; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.S5
FL709	<i>cki-1(bmd132[GFP::LoxP::cki-1::3xFLAG]) II; stls10220[end-1p::his-24::mCherry::let-858 3' UTR + unc-119(+)]</i>	This study	Fig.S6

## Discussion

Au cours de ma thèse, j'ai étudié les régulations croisées impliquant le processus de prolifération cellulaire et le processus de différenciation cellulaire au sein du modèle de l'organogenèse intestinale chez le nématode *C. elegans*. J'ai pu montrer que l'accélération des divisions intestinales n'affecte pas le timing de polarisation des entérocytes, ni celui de la formation de la bordure en brosse. En revanche, j'ai pu mettre en évidence qu'un retard dans l'arrêt du cycle cellulaire retardait le recrutement de certains composants de la bordure en brosse. J'ai également pu montrer que les facteurs de transcription ELT-2 et ELT-7 sont nécessaires à l'arrêt du cycle cellulaire dans l'anneau postérieur de l'intestin.

### VI. L'accélération du cycle cellulaire induite par *cdc-25.1(gof)* n'accélère ni la prolifération ni la formation de la bordure en brosse

Chez *C. elegans*, l'organogenèse intestinale présente une apparente coordination temporelle entre les premiers signes de la différenciation structurelle des entérocytes et l'introduction de la phase G0/G1 dans le cycle cellulaire des entérocytes. En effet, différentes études mettent en évidence une introduction de la phase G0/G1 au sein de la lignée intestinale au stade E16 (Boxem and van den Heuvel 2001; Adikes et al. 2020). En parallèle, les cellules de la lignée E se polarisent. Suite à la division des anneaux antérieur et postérieur, les divisions intestinales cessent définitivement. On voit alors d'importantes étapes de la différenciation intestinale se mettre en place, telles que l'expression polarisée des transporteurs de nutriments, la formation des granules intestinaux au niveau du pôle basal et la formation de la bordure en brosse au pôle apical des entérocytes. Ainsi, nous nous sommes demandé si ces différents mécanismes coïncidaient du fait d'une régulation commune ou s'il s'agissait de processus découplés l'un de l'autre.

Nous avons d'abord fait l'hypothèse que si les deux processus sont corégulés, un mécanisme comptant le nombre de divisions ou de cellules intestinales pourrait synchroniser la prolifération des cellules intestinales et l'avancement de leur différenciation. Pour tester cette hypothèse, j'ai utilisé une souche gain de fonction pour la phosphatase CDC-25.1, qui induit une accélération des divisions précoces des cellules intestinales, provoquant un quasi-doublement du nombre de cellules dans l'intestin mature (Kostić and Roy 2002; Clucas 2002; Bao et al. 2008; Demouchy et al. 2024). J'ai constaté que l'accélération du cycle induite par le mutant gain de fonction CDC-25.1 n'entraîne pas d'accélération dans l'établissement de la polarisation, ni de la formation de la bordure en brosse.

#### A. L'accélération du cycle cellulaire induite par *cdc-25.1(gof)* n'accélère pas la polarisation

Si la polarisation dépendait d'un mécanisme comptant le nombre de divisions ou de cellules intestinales, alors la polarisation prendrait place plus tôt chez les embryons *cdc-25.1(gof)* que chez les embryons contrôles. Or dans les embryons contrôles, PAR-3 commence à s'accumuler dans des foci au niveau de la membrane apicale au début du stade E16 et puis forme une ligne apicale continue à la fin du stade E16, au début de l'élongation de l'embryon, marqueur temporel important puisque ce processus d'élongation est décorrélé de l'organogenèse intestinale. De même, dans les embryons *cdc-25.1(gof)*, PAR-3 s'accumule dans des foci apicaux au début du stade E32 puis forme une ligne apicale au stade E32 plus tardif, au début de l'élongation de l'embryon : il n'y a donc pas d'accélération de la mise en place du processus de polarisation chez les mutants *cdc-25.1(gof)*.

## B. L'accélération du cycle cellulaire induite par *cdc-25.1(gof)* n'accélère pas la formation de la bordure en brosse

Concernant la formation de la bordure en brosse, j'ai observé l'accumulation apicale de deux composants de la bordure en brosse, l'un recruté au cours de la phase E16, ERM-1, l'autre recruté plus tardivement, un peu après le stade 1.5-fold, EPS-8. Mes données montrent que le profil d'accumulation apicale d'ERM-1 et d'EPS-8 ne présente aucune accélération significative de la dynamique d'accumulation chez les mutants *cdc-25.1(gof)* par rapport aux embryons contrôles. Ainsi il semble que le nombre de divisions et/ou le nombre de cellules intestinales ne fournissent pas d'informations permettant de coordonner la prolifération et la différenciation intestinale.

## C. L'accélération du cycle cellulaire induite par *cdc-25.1(gof)* semble modifier l'accumulation d'ERM-1 au stade 2-fold

En revanche, mes données montrent qu'une différence significative existe concernant l'accumulation apicale d'ERM-1 au stade 2-fold. Dans ce contexte, la souche mutante *cdc-25.1(gof)* présente une accumulation plus faible d'ERM-1 au pôle apical que le contrôle. Peu d'embryons ayant été observés dans ces conditions, il faudra augmenter le nombre d'observations pour confirmer la significativité de cette différence. Il pourrait également être intéressant de regarder si cette différence se maintient ou s'amplifie au cours des stades plus tardifs comme le stade 4-fold et chez les larves L1. Il s'agit d'une observation surprenante qui ne semble pas être liée au nombre de cellules, puisqu'on n'observe rien de tel dans notre souche CKI-1 degon (voir ci-dessous). Une hypothèse possible est que la localisation apicale d'ERM1 puisse être perturbée par un changement de l'activité des couples cycline/CDK potentiellement induit par l'augmentation de la stabilité de la phosphatase CDC-25.1. En effet, il a été montré dans différents contextes que l'activité des complexes cycline/CDK régule les protéines associées à l'actine. C'est notamment le cas de la filamine, une protéine de réticulation qui est phosphorylée à la fois par le complexe cycline B1-CDK1 et par le complexe cycline D1-

CDK4/6 (Cukier, Li, and Lee 2007; Zhong et al. 2010). De plus, l'infection des entérocytes par des *E. coli* entérohémorragiques, chez *C. elegans*, induit l'effacement des microvillosités et la redistribution de l'ACT-5 dans le cytoplasme de manière dépendante de CDK-1. Cet effet de CDK-1 sur l'ACT-5 implique la formine CYK-1 et sa phosphorylation par CDK-1 (Huang et al. 2021).

## VII. La dégradation de CKI-1 retarde partiellement la formation de la bordure en brosse

Nous avons formulé une seconde hypothèse selon laquelle la formation de la bordure en brosse nécessiterait l'arrêt des divisions intestinales. Afin de tester cette hypothèse, j'ai utilisé une souche génétiquement modifiée exprimant, spécifiquement dans la lignée intestinale, un système degron inductible à l'auxine. Grâce à ce système, j'ai pu induire la dégradation de CKI-1/p27<sup>Kip1</sup> dans l'intestin en cours de développement. En l'absence de ce régulateur majeur du cycle cellulaire, l'ensemble des cellules intestinales produisent une division supplémentaire au stade E16, ce qui induit la formation d'un intestin mature hyperplasique de 32 cellules (Kostić, Li, and Roy 2003; Fujita, Takeshita, and Sawa 2007).

### A. La dégradation de CKI-1 retarde le recrutement d'EPS-8 à la membrane apicale

J'ai constaté que l'ajout d'un cycle de division supplémentaire à la fin de la phase proliférative de l'intestin retardait le recrutement d'EPS-8 à la membrane entre les stades 1.5fold et 2-fold. Le retard est toujours perceptible au stade 3-fold mais un rattrapage partiel semble s'opérer entre le stade 2-fold et le stade 3-fold. On peut se demander si ce rattrapage serait complet aux stades plus tardifs ou bien si le recrutement demeurerait toujours plus faible en l'absence de CKI-1. Pour répondre à ces interrogations, nous observerons des stades 4-fold et des larves L1. Ces résultats montrent que certains aspects de la différenciation intestinale sont dépendants de l'état du cycle cellulaire ou de CKI-1.



## B. La dégradation de CKI-1 pourrait impacter différemment les constituants de la bordure en brosse en fonction de leur temporalité de recrutement

Il est intéressant de remarquer que tous les constituants de la bordure en brosse ne sont pas sensibles à l'absence d'arrêt du cycle cellulaire. En effet, aucun retard de recrutement n'est visible pour ERM-1 qui est recruté au stade E16. Ainsi, on peut supposer que les facteurs recrutés précocement, avant E20, soient régulés indépendamment de l'arrêt du cycle cellulaire, tandis que les facteurs recrutés après E20, soient dépendants de l'arrêt du cycle. Pour tester cette hypothèse, il conviendra de suivre le timing de recrutement apical d'autres constituants de la bordure en brosse, recrutés précocement tels que la filamine FLN-2 et la plastine PLST-1, ou recrutés après le stade E20 tels que la myosine légère MLC-5 ou la myosine lourde HUM-5 (Bidaud-Meynard et al. 2021). Il conviendra également d'observer des embryons plus précoces (E16), car un éventuel retard de recrutement des marqueurs précoces pourrait possiblement survenir au stade E16. Nous pourrions également suivre si le retard de recrutement d'EPS-8 a des effets sur la formation de la bordure en brosse à plus long terme, comme des défauts d'élongation des microvillosités, tel qu'observé chez des mutants pour *eps-8* (Croce et al. 2004). Nous pouvons également nous demander si ce retard peut affecter d'autres aspects de la différenciation, tels que la localisation basale des granules intestinaux ou l'expression de l'enzyme GES-1.

### C. Le mécanisme à l'origine du retard de recrutement d'EPS-8 reste à éclaircir

Le mécanisme par lequel la dégradation de CKI-1 retarde le recrutement apical d'EPS-8 reste à éclaircir. On peut supposer que ce mécanisme est lié à l'état du cycle en lui-même et au maintien prolongé de l'activité des couples cycline/CDK que cela implique. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, on sait que l'activité des complexes cycline/CDK peut réguler les protéines associées à l'actine (Cukier, Li, and Lee 2007; Zhong et al. 2010; Huang et al. 2021). On peut envisager que l'introduction d'un cycle cellulaire supplémentaire modifie la dynamique de l'actine et entrave la formation de la bordure en brosse via l'activité anormalement tardive des complexes cycline-CDK. Cette hypothèse pourrait être testée en vérifiant si l'inhibition des CDK et la perte du cycle supplémentaire permettent de restaurer le timing de recrutement d'EPS-8 à la membrane apicale.

L'autre mécanisme envisageable est que le retard de recrutement d'EPS-8 est lié à une fonction de CKI-1/p27<sup>Kip1</sup> indépendante du cycle cellulaire. Il a en effet été démontré que les orthologues de CKI-1 favorisent la différenciation musculaire et neuronale en stabilisant les facteurs de transcription MyoD et Neurogenin 2 (Reynaud et al. 2000; Vernon and Philpott 2003; Vernon, Devine, and Philpott 2003; Nguyen et al. 2006). Elles sont également impliquées dans la régulation du cytosquelette par la voie Rho/ROCK/LIMK/cofiline (Besson, Dowdy, and Roberts 2008). Cependant, nous avons observé que la déplétion de ELT-2 est à l'origine d'une diminution de l'expression d'ERM-1 (**Fig. S4B** de l'article). L'absence de retard du recrutement de ERM-1 en l'absence de CKI-1 suggère donc que CKI-1 n'affecte pas l'expression des facteurs de différenciation intestinale ELT-2 et ELT-7. Malgré tout, une quantification d'ELT-2/7 nous permettra de confirmer l'impact de l'absence de CKI-1 sur l'expression des facteurs de différenciation intestinale.

## D. La différence de comportement de ERM-1 et EPS-8 souligne la variabilité des relations entre cycle cellulaire et différenciation

La différence de comportement entre ERM-1 et EPS-8 met en lumière que les relations entre le cycle cellulaire et la différenciation sont contextuelles et peuvent varier. Pour compléter nos résultats, il serait intéressant d'étudier quelles seraient les conséquences d'un arrêt précoce du cycle cellulaire et de la formation d'un intestin hypoplasique sur la différenciation des entérocytes. Ainsi, nous pourrions tester si un arrêt précoce du cycle cellulaire intestinal est suffisant pour induire prématurément le recrutement apical d'EPS-8 et potentiellement d'autres effecteurs de la différenciation. Au cours de ma thèse, j'ai essayé de mettre en place un tel système en générant une souche exprimant au sein de la lignée intestinale un système degron inductible à l'auxine ciblant la phosphatase CDC-25.1. Malheureusement, l'expression de cette construction n'a pas eu d'effet sur la prolifération des cellules intestinales, possiblement à cause de la redondance qui pourrait exister entre CDC-25.1 et CDC-25.2. La phosphatase CDC-25.2 est principalement connue pour son rôle dans la régulation du dernier cycle de division intestinales entre E16 et E20, puisqu'en son absence ces divisions n'ont pas lieu (Y.-U. Lee et al. 2016). Mais il a également été montré un ralentissement de la division de E2 à E4 chez des embryons possédant l'allèle mutant thermosensible *cdc-25.2(g52)* (également nommé *emb-59(g52)*), en conditions non-permissives (Nair et al. 2013). Ainsi nous construisons actuellement une souche possédant à la fois la mutation thermosensible pour *cdc-25.2* et le système degron ciblant CDC-25.1. J'espère que cette souche nous permettra de comprendre les relations entre la prolifération et la différenciation dans un contexte d'arrêt précoce et de fournir à la communauté un modèle d'hypoplasie intestinale précoce chez *C. elegans*.

## VIII. Les facteurs ELT-2 et ELT-7 régulent l'arrêt du cycle cellulaire dans les anneaux postérieurs au cours de la transition E16/E20

Tandis que nos premiers résultats indiquent que les régulateurs du cycle cellulaire contrôlent certains aspects de la différenciation intestinale, nous nous sommes également interrogés sur le rôle des facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7 sur la capacité des cellules intestinales à se diviser. Comme nous l'avons vu en introduction, des études antérieures ont montré que les capacités prolifératives des descendants du blastomère E sont intimement liées à la spécification endodermique. Des travaux précurseurs ont en effet montré que des blastomères E isolés sont capables de produire des cystes présentant 16 ou 20 cellules (Leung, Hermann, and Priess 1999). Ainsi, le blastomère E semble posséder toutes les informations nécessaires au contrôle du nombre de cellules intestinales de façon autonome. Il a ensuite été démontré que la déstabilisation du réseau de gènes sous-tendant la spécification endodermique induit une augmentation du nombre de descendants de E, suggérant que les signaux de spécification limitent le nombre de divisions intestinales (Robertson, Medina, and Lin 2014; Choi, Broitman-Maduro, and Maduro 2017). Cependant, il est à noter que plusieurs heures séparent la spécification intestinale et l'arrêt du cycle cellulaire, ce qui pose la question des potentiels effecteurs servant de relais entre les facteurs de spécification et la sortie du cycle cellulaire. Nos données montrent que, bien que certains aspects de la différenciation, à savoir la polarisation et la formation de la bordure en brosse, ne déclenchent pas l'arrêt du cycle cellulaire, les facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7 empêchent l'apparition de divisions intestinales tardives. Il est à noter que le rythme des divisions intestinales est également étroitement lié à la spécification intestinale, qui semble être requise pour l'augmentation de la longueur du cycle cellulaire observée dans la lignée E (Goldstein 1992; Robertson, Medina, and Lin 2014). Cependant, nos résultats montrent que les embryons témoins et les embryons dépourvus d'ELT-2 et d'ELT-7 contiennent 16 cellules intestinales juste avant l'élongation, ce

qui suggère que, contrairement aux facteurs de spécification, ELT-2 et ELT-7 contrôlent le nombre de cycles cellulaires mais pas leur longueur.

### A. L'accumulation de CKI-1 dans les anneaux postérieurs au cours de la transition E16/E20 est régulée par ELT-2 et ELT-7

Comme nous l'avons vu précédemment, CKI-1 joue un rôle crucial dans l'arrêt des divisions intestinales au stade E16. Nos données montrent clairement que l'accumulation de CKI-1 dans les anneaux postérieurs de l'intestin suite à la transition E16/E20 est dépendante de l'expression des facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7. Cela pourrait expliquer pourquoi, en l'absence d'ELT-2 et d'ELT-7, les cellules des anneaux postérieurs ne sortent pas du cycle cellulaire, accumulent à nouveau de la cycline B1 et se divisent une nouvelle fois.

Cependant, on sait que les embryons *cki-1(ARNi)* ne présentent qu'un seul cycle surnuméraire, produisant ainsi 32 noyaux intestinaux (Kostić and Roy 2002). Ces résultats impliquent l'existence de mécanismes supplémentaires arrêtant ensuite le cycle cellulaire. Par ailleurs, ce cycle supplémentaire n'a lieu que dans les anneaux centraux, l'anneau antérieur et postérieur se divisent normalement comme lors de la transition E16/E20 mais ne se divisent pas une fois de plus de façon tardive. La présence de divisions surnuméraires au niveau des entérocytes postérieurs en absence des facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7 suggère donc que ELT-2 et ELT-7 affectent non seulement l'expression de CKI-1 mais également un autre mécanisme contribuant à l'arrêt du cycle.

## B. Hypothèse d'une régulation de CKI-1 par ELT-2/7 via la voie des facteurs de transcription GATA

Des études de transcriptomiques ont permis d'identifier certains gènes cibles de ELT-2 et ELT-7. L'étude de (Dineen et al. 2018) montre que l'expression du gène *cki-1* ne semble pas être affectée dans les mutants *elt-2* et/ou *elt-7* et que parmi les effecteurs du cycle, seul *cyb-2.2* semble être régulé à la baisse dans les mutants *elt-2* et les mutants *elt-2 ; elt-7*. L'étude de (McGhee et al. 2009) montre une légère surexpression de *cdc-25-1* et une baisse de l'expression de *cyc-1* et *cyd-1* chez les mutants *elt-2*. Ces études ont cependant été effectuées au stade larvaire L1 et ne permettent donc pas de conclure quant à un possible effet de ELT-2 et/ou ELT-7 sur l'expression de CKI-1 ou d'autres régulateurs du cycle à un stade très précis (transition E16/E20) du développement embryonnaire.

Je n'ai pas pu déterminer la manière dont ELT-2 et ELT-7 contrôlent l'accumulation de CKI-1, mais on sait que dans différents systèmes la famille des facteurs de transcription GATA, à laquelle appartiennent ELT-2/7, est impliquée dans la régulation du cycle cellulaire par l'activation des promoteurs de différentes CKI. On peut notamment citer le cas du facteur GATA3 qui maintient la quiescence des cellules supportrices de la cochlée en interagissant directement avec le promoteur de p27Kip1, chez la souris (Xu et al. 2021). Ainsi, ELT-2 et ELT-7 pourraient directement cibler le promoteur de CKI-1. Pour tester cette hypothèse, on pourrait chercher si des séquences cibles spécifiques des facteurs GATA sont présentes dans le promoteur de *cki-1*, puis muter les nucléotides les plus importants à l'aide de la technique CRISPR-Cas9 dans le but d'inhiber la fixation éventuelle d'ELT-2/7 sur le promoteur. Une fois assurés de l'effectivité de la méthode, il faudra vérifier si la souche présentant le promoteur muté phénotype le changement d'accumulation de CKI-1 au cours de la transition E16/E20.

Il est envisageable que le contrôle de l'expression de *cki-1* fasse également intervenir le complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF. En effet, une étude a montré que la

mutation perte de fonction du gène *ham-3* (Ertl et al. 2016), orthologue des sous-unités accessoires BAF60 du complexe SWI/SNF, phénocopie la mutation perte de fonction du gène *cki-1*, induisant un doublement du nombre de cellules du primordium, qui passent ainsi de 16 à 32. Ce complexe participe également au processus de différenciation des muscles chez *C. elegans* et chez la souris. Chez la souris, le complexe SWI/SNF accompagné de la sous-unité accessoire BAF60C interagit, probablement de façon directe, avec GATA4 et MyoD, au niveau des promoteurs de leurs gènes cibles, permettant la coopération du complexe SWI/SNF et du facteur GATA4 pour transactiver des gènes cibles de GATA4 et MyoD. Ainsi, l'action croisée du complexe SWI/SNF et des facteurs de transcription GATA4 et MyoD permet la différenciation terminale des cellules musculaires cardiaques et squelettiques (Lickert et al. 2004; Puri and Mercola 2012). Chez *C. elegans*, le complexe SWI/SNF agit conjointement avec *hlh-1*, l'orthologue de MyoD, d'une part pour lever les répressions transcriptionnelles des gènes spécifiques des muscles, et d'autre part pour supprimer l'expression de la cycline-E1 (*cye-1*) afin d'arrêter le cycle cellulaire (Ruijtenberg and Van Den Heuvel 2015). Ainsi, il semble raisonnable de penser que le complexe SWI/SNF accompagné de la sous-unité accessoire HAM-3 puisse interagir avec les facteurs ELT-2/7 pour contrôler l'expression de CKI-1 dans l'intestin de *C. elegans*. Afin de tester cette hypothèse, il conviendrait d'une part d'étudier le pattern d'expression de HAM-3 à l'aide d'une protéine fusion GFP afin de savoir si elle est présente dans l'anneau postérieur de l'intestin aux stades E16/E20. Il conviendrait également de vérifier si la perte de HAM-3 modifie l'expression de CKI-1. Je pourrais également tester si une déplétion de HAM-3 produit des divisions surnuméraires dans les anneaux postérieurs après la transition E16/E20. La dégradation précoce de HAM-3 ayant pour effet le doublement des cellules du primordium, la construction d'un système degron inductible à l'auxine ciblant HAM-3 sera nécessaire.

### C. Hypothèse d'une régulation indirecte de CKI-1 par ELT-2/7

Une autre hypothèse concernant le défaut d'accumulation de CKI-1 serait qu'il soit la conséquence d'une dérégulation survenant en amont de CKI-1. On sait notamment que la localisation nucléaire de CKI-1 et l'entrée en quiescence chez *C. elegans* est dépendante de la phosphatase CDC-14 (Saito et al. 2004; Roy et al. 2011). Ainsi, CDC-14 constitue une cible de choix pour commencer à étudier la ou les voies de signalisation qui pourraient être impliquées dans le défaut d'accumulation nucléaire de CKI-1. Les mutants *cdc-14* présentent quelques entérocytes surnuméraires à l'âge adulte (Saito et al. 2004). L'origine de ces cellules surnuméraires n'a cependant pas été étudiée de façon précise. Dans un premier temps nous pourrions donc analyser finement le développement intestinal dans les mutants *cdc-14* afin de déterminer si l'apparition de cellules surnuméraires se fait de façon similaire dans les mutants *cdc-14* et *elt-2 ; elt-7*. Nous pourrions aussi caractériser la localisation de CDC-14 dans l'intestin au cours de la transition E16/E20 et déterminer quel est l'effet de l'absence de ELT-2/7 sur cette localisation.

### D. Aspect temporel de la régulation du cycle cellulaire par ELT-2/7

On peut également questionner la temporalité de la régulation du cycle et le fait que les deux facteurs de différenciation commencent à être exprimés aux stades E2/E4 (Sommermann et al. 2010; Nair et al. 2013) mais qu'ils n'empêchent pas les divisions intestinales avant le stade E20. Différentes hypothèses peuvent être émises pour expliquer cela : cela peut suggérer que ELT-2 et ELT-7 n'atteignent pas des niveaux d'expression suffisants pour induire l'arrêt du cycle cellulaire à des stades plus précoces ou bien que leur action soit dépendante de modifications au sein du cycle cellulaire survenant au cours de la transition E16/E20. Pour répondre à la première hypothèse, il nous faudra quantifier les niveaux d'expression d'ELT-2/7 au cours du développement intestinal afin de définir un niveau seuil susceptible de déclencher l'action inhibitrice d'ELT-2/7, puis tenter de voir si les divisions intestinales s'arrêtent



précocement dans des contextes de surexpression d'ELT-2/7. Mais je ne privilégie pas cette hypothèse.

Concernant la seconde hypothèse, on constate que tout au long du développement intestinal, le cycle cellulaire au sein de la lignée E ne cesse d'évoluer. Dans un premier temps, suite à la spécification endodermique, on observe l'introduction de la phase G2 et l'expression de WEE-1.1, respectivement (Edgar and McGhee 1988; Y.-U. Lee et al. 2016) et (Robertson, Medina, and Lin 2014). Dans un second temps, il y a une intégration de la phase G0/G1 à partir du stade E16 (Boxem and van den Heuvel 2001; Adikes et al. 2020). Ainsi, il semble clair que le cycle cellulaire est très dynamique au cours de l'organogenèse intestinale. Or, une dernière modification du cycle plus subtile semble s'opérer pour permettre la transition E16/E20, au moins dans les anneaux antérieur et postérieur. En effet, on sait que la phosphatase CDC-25.2 joue un rôle mineur dans la prolifération intestinale du stade E au stade E16. Le mutant thermosensible *cdc-25.2(g52)* présente un simple ralentissement de la division de E2 à E4 en conditions non-permissives (Nair et al. 2013). En revanche, son rôle devient crucial à partir de la transition E16/E20 dans les anneaux antérieur et postérieur, puisque les mutants *cdc-25.2* perdent les divisions antérieure et postérieure, formant un intestin mature de 16 cellules au lieu de 20 (Y.-U. Lee et al. 2016). Ainsi, au moment de cette transition E16/E20, il semble s'opérer une modification dans l'expression ou l'importance fonctionnelle de certains acteurs du cycle cellulaire intestinal. Cette maturation du cycle cellulaire semble se maintenir au stade larvaire, puisque la phosphatase CDC-25.2 est nécessaire aux endomitoses qui surviennent dans l'intestin des larves au stade L1 (Y.-U. Lee et al. 2016). Ainsi, une maturation d'un cycle cellulaire embryonnaire vers un cycle cellulaire larvaire, qui s'initierait au moment de la transition E16/E20, pourrait être le contexte de régulation au sein duquel ELT-2 et ELT-7 agissent sur l'expression de CKI-1. Pour tester cette hypothèse, il conviendrait de trouver d'autres effecteurs du cycle cellulaire qui, comme CDC-25.2, voient leur importance changer.

On sait que CDC-25.2 agit en déphosphorylant les phosphorylations inhibitrices déposées par WEE-1.3 tandis que CDC25.1 agissait contre l'action de WEE-1.1. Ainsi, il serait intéressant de déterminer si WEE-1.3 est présente dans les cellules intestinales à partir du stade E20 et si son expression est régulée par ELT-2/7.

### E. Aspect spatial de la régulation du cycle cellulaire par ELT-2/7

Enfin, il convient de se questionner quant à la régulation spatiale de l'action d'ELT-2 et ELT-7. En effet, au cours de la transition E16/E20, on observe à la fois la division de l'anneau le plus antérieur (anneau 1) et celle de l'anneau le plus postérieur (anneau 8 du primordium). Or, la régulation d'ELT-2 et ELT-7 est strictement limitée à l'anneau postérieur du primordium. Ainsi, on peut distinguer 3 zones distinctes dans l'intestin primordial : le premier anneau, capable de faire la transition E16/E20 mais insensible à la régulation ELT-2/7 ; une zone centrale composée des anneaux 2 à 7, ne se divisant pas durant la transition E16/E20 ; et enfin le dernier anneau, capable de se diviser durant la transition E16/E20 et sensible à la régulation ELT-2/7. Or, on sait que les cellules intestinales postérieures se distinguent des cellules plus antérieures notamment par l'expression de deux facteurs de transcription Hox, NOB-1 et PHP-3 (J. Liu and Murray 2023; Murray et al. 2022; Z. Zhao et al. 2010).

Dans un premier temps, nous étudierons la dynamique d'expression des gènes Hox postérieurs dans des embryons contrôles avant et après la transition E16/E20. Nous ferons ensuite de même dans des embryons déplétés en ELT-2/7, pour voir si l'absence d'ELT-2/7 modifie l'expression des gènes Hox postérieurs. On pourra également analyser l'effet de la perte des gènes Hox postérieurs sur l'expression de CKI-1.

Il a été démontré que les membres de la famille Hox favorisent la prolifération chez *C. elegans* (Heinze et al. 2023; Roiz et al. 2016), il est donc envisageable que la présence de NOB-1 et/ou PHP-3 dans les cellules postérieures contribue à leur capacité à subir des divisions

surnuméraires en l'absence d'ELT-2 et d'ELT-7. Pour tester cette hypothèse, nous utiliserons des souches mutantes pour *nob-1* et *php-3*, ainsi qu'une approche de déplétion par ARN interférant pour évaluer l'impact de la déplétion simple ou double des gènes Hox postérieurs sur le nombre de cellules intestinales dans des embryons témoins et déplétés en ELT-2/7. Si les gènes Hox postérieurs ont un rôle pro-mitotique dans ce contexte, nous pourrions observer une disparition des divisions surnuméraires en l'absence simultanée d'ELT-2/7 et de NOB-1 et/ou PHP-3. Si les gènes Hox postérieurs jouent un rôle dans l'engagement du dernier anneau du primordium en E16 dans la division E16/E20, il est possible que cette division soit compromise ; dans ce cas, nous envisagerons l'utilisation d'une approche de dégradation conditionnelle avec notre système degron.

Nous pourrions également mener des expériences d'expression ectopique des gènes Hox postérieurs dans l'anneau antérieur à l'aide de transgènes exprimant *nob-1* et *php-3* sous le contrôle du promoteur de *ceh-37* (J. Liu and Murray 2023) pour vérifier si cet anneau devient alors sensible à la régulation ELT-2/7. En revanche, nous devons également considérer que c'est peut-être le gène Hox antérieur *ceh-37* (ou ses cibles) qui possède une spécificité d'action pro-quiescence sur le cycle cellulaire. Nous pourrions donc dépléter les gènes Hox antérieurs pour voir si le premier anneau devient sensible à la régulation ELT-2/7, et les exprimer ectopiquement en postérieur à l'aide d'un transgène exprimant *ceh-37* sous le contrôle du promoteur de *nob-1* ou de *php-3* pour évaluer leur éventuel effet pro-quiescence.

## IX. Conclusion générale

Mon travail de thèse a permis de mettre en évidence qu'au cours de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans*, certains aspects de la différenciation intestinale semblent être régulés par l'état du cycle cellulaire, tel que la stabilité de l'expression apicale d'ERM-1 au stade 2-fold ou le recrutement apical d'EPS-8. De même, dans mon système d'étude, les facteurs de différenciation ELT-2/7 régulent l'arrêt de la prolifération dans un contexte spatio-temporel précis, que sont les anneaux postérieurs au cours de la transition E16/E20. Mes résultats illustrent la complexité des relations existantes entre le programme de différenciation et de prolifération cellulaire au cours de la formation des organes. Ainsi, l'organogenèse nécessite une coordination complexe entre le cycle cellulaire et la différenciation, comprenant des périodes de couplage et de découplage entre ces deux processus, assez éloignées de la vision naïve d'une simple corrélation négative.

## X. Bibliographies:

- Achilleos, Annita, Ann M. Wehman, and Jeremy Nance. 2010. "PAR-3 Mediates the Initial Clustering and Apical Localization of Junction and Polarity Proteins during C. Elegans Intestinal Epithelial Cell Polarization." *Development* 137 (11): 1833–42. <https://doi.org/10.1242/dev.047647>.
- Adikes, Rebecca C., Abraham Q. Kohrman, Michael A Q Martinez, Nicholas J. Palmisano, Jayson J. Smith, Taylor N. Medwig-Kinney, Mingwei Min, et al. 2020. "Visualizing the Metazoan Proliferation-Quiescence Decision in Vivo." *ELife* 9 (December): 1–74. <https://doi.org/10.7554/eLife.63265>.
- Agnihotri, S., A. Wolf, D. Picard, C. Hawkins, and A. Guha. 2009. "GATA4 Is a Regulator of Astrocyte Cell Proliferation and Apoptosis in the Human and Murine Central Nervous System." *Oncogene* 28 (34): 3033–46. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.159>.
- Ali, Fahad, Chris Hindley, Gary McDowell, Richard Deibler, Alison Jones, Marc Kirschner, Francois Guillemot, and Anna Philpott. 2011. "Cell Cycle-Regulated Multi-Site Phosphorylation of Neurogenin 2 Coordinates Cell Cycling with Differentiation during Neurogenesis." *Development* 138 (19): 4267–77. <https://doi.org/10.1242/dev.067900>.
- Ando, Tomoaki, Takumi Kawabe, Hirotaka Ohara, Bernard Ducommun, Makoto Itoh, and Takashi Okamoto. 2001. "Involvement of the Interaction between P21 and Proliferating Cell Nuclear Antigen for the Maintenance of G2/M Arrest after DNA Damage." *Journal of Biological Chemistry* 276 (46): 42971–77. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106460200>.
- Arai, Yoko, Jeremy N. Pulvers, Christiane Haffner, Britta Schilling, Ina Nüsslein, Federico Calegari, and Wieland B. Huttner. 2011. "Neural Stem and Progenitor Cells Shorten S-Phase on Commitment to Neuron Production." *Nature Communications* 2 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms1155>.
- Asan, Alparsan, Stephan A. Raiders, and James R. Priess. 2016. "Morphogenesis of the C. Elegans Intestine Involves Axon Guidance Genes." Edited by Susan E. Mango. *PLOS Genetics* 12 (4): e1005950. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005950>.
- Azzarelli, Roberta, Christopher Hurley, Magdalena K. Sznurkowska, Steffen Rulands, Laura Hardwick, Ivonne Gamper, Fahad Ali, et al. 2017. "Multi-Site Neurogenin3 Phosphorylation Controls Pancreatic Endocrine Differentiation." *Developmental Cell* 41 (3): 274–286.e5. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.04.004>.
- Bähler, Jürg. 2005. "Cell-Cycle Control of Gene Expression in Budding and Fission Yeast." *Annual Review of Genetics* 39: 69–94. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.39.110304.095808>.
- Bao, Zhirong, Zhongying Zhao, Thomas J. Boyle, John I. Murray, and Robert H. Waterston. 2008. "Control of Cell Cycle Timing during C. Elegans Embryogenesis." *Developmental Biology* 318 (1): 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.02.054>.
- Bargonetti, Jill, and James J. Manfredi. 2002. "Multiple Roles of the Tumor Suppressor P53." *Current Opinion in Oncology* 14 (1): 86–91. <https://doi.org/10.1097/00001622-200201000-00015>.
- Batard, Pascal, Marie-Noëlle Monier, Nicolas Fortunel, Karin Ducos, Patricia Sansilvestri-Morel, Thi-Haï Phan, Antoinette Hatzfeld, and Jacques A. Hatzfeld. 2000. "TGF-B1

- Maintains Hematopoietic Immaturity by a Reversible Negative Control of Cell Cycle and Induces CD34 Antigen up-Modulation.” *Journal of Cell Science* 113 (3): 383–90. <https://doi.org/10.1242/jcs.113.3.383>.
- Bei, Yanxia, Jennifer Hogan, Laura A. Berkowitz, Martha Soto, Christian E. Rocheleau, Ka Ming Pang, John Collins, and Craig C. Mello. 2002. “SRC-1 and Wnt Signaling Act Together to Specify Endoderm and to Control Cleavage Orientation in Early C. Elegans Embryos.” *Developmental Cell* 3 (1): 113–25. [https://doi.org/10.1016/S1534-5807\(02\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S1534-5807(02)00185-5).
- Berger, Christian, Ramakrishnan Kannan, Sudharani Myneni, Simone Renner, L. S. Shashidhara, and Gerhard M Technau. 2010. “Cell Cycle Independent Role of Cyclin E during Neural Cell Fate Specification in Drosophila Is Mediated by Its Regulation of Prospero Function.” *Developmental Biology* 337 (2): 415–24. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.11.012>.
- Besson, Arnaud, Steven F. Dowdy, and James M. Roberts. 2008. “CDK Inhibitors: Cell Cycle Regulators and Beyond.” *Developmental Cell* 14 (2): 159–69. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.01.013>.
- Besson, Arnaud, Mark Gurian-West, Xueyan Chen, Karen S Kelly-Spratt, Christopher J Kemp, and James M Roberts. 2006. “A Pathway in Quiescent Cells That Controls P27 Kip1 Stability, Subcellular Localization, and Tumor Suppression.” *Genes & Development* 20 (1): 47–64. <https://doi.org/10.1101/gad.1384406>.
- Bidaud-Meynard, Aurélien, Flora Demouchy, Ophélie Nicolle, Anne Pacquelet, Shashi Kumar Suman, Camille N. Plancke, François B. Robin, and Grégoire Michaux. 2021. “High-Resolution Dynamic Mapping of the C. Elegans Intestinal Brush Border.” *Development* 148 (23): 1–8. <https://doi.org/10.1242/dev.200029>.
- Binné, Ulrich K., Marie K. Classon, Frederick A. Dick, Wenyi Wei, Michael Rape, William G. Kaelin, Anders M. Näär, and Nicholas J. Dyson. 2007. “Retinoblastoma Protein and Anaphase-Promoting Complex Physically Interact and Functionally Cooperate during Cell-Cycle Exit.” *Nature Cell Biology*. <https://doi.org/10.1038/ncb1532>.
- Bossinger, Olaf, Tetsunari Fukushige, Myriam Claeys, Gaetan Borgonie, and James D. McGhee. 2004. “The Apical Disposition of the Caenorhabditis Elegans Intestinal Terminal Web Is Maintained by LET-413.” *Developmental Biology* 268 (2): 448–56. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.01.003>.
- Boxem, Mike, and Sander van den Heuvel. 2001. “Lin-35 Rb and Cki-1 Cip/Kip Cooperate in Developmental Regulation of G1 Progression in C. Elegans.” *Development* 128 (21): 4349–59. <https://doi.org/10.1242/dev.128.21.4349>.
- Brenner, Sydney. 1973. “THE GENETICS OF BEHAVIOUR.” *British Medical Bulletin* 29 (3): 269–71. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071019>.
- Broitman-Maduro, Gina, Morris F. Maduro, and Joel H. Rothman. 2005. “The Noncanonical Binding Site of the MED-1 GATA Factor Defines Differentially Regulated Target Genes in the C. Elegans Mesendoderm.” *Developmental Cell* 8 (3): 427–33. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2005.01.014>.
- Busanello, Anna, Cecilia Battistelli, Mariarosaria Carbone, Cassandra Mostocotto, and Rossella Maione. 2012. “MyoD Regulates P57 Kip2 Expression by Interacting with a Distant Cis -Element and Modifying a Higher Order Chromatin Structure.” *Nucleic Acids*

*Research* 40 (17): 8266–75. <https://doi.org/10.1093/nar/gks619>.

- Cadart, Clotilde, Sylvain Monnier, Jacopo Grilli, Pablo J Sáez, Nishit Srivastava, Rafaele Attia, Emmanuel Terriac, Buzz Baum, Marco Cosentino-Lagomarsino, and Matthieu Piel. 2018. “Size Control in Mammalian Cells Involves Modulation of Both Growth Rate and Cell Cycle Duration.” *Nature Communications* 9 (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05393-0>.
- Cadart, Clotilde, Larisa Venkova, Matthieu Piel, and Marco Cosentino Lagomarsino. 2022. “Volume Growth in Animal Cells Is Cell Cycle Dependent and Shows Additive Fluctuations.” *ELife* 11. <https://doi.org/10.7554/eLife.70816>.
- Cadigan, K. M., and M. L. Waterman. 2012. “TCF/LEFs and Wnt Signaling in the Nucleus.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4 (11): a007906–a007906. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007906>.
- Caldon, C, and Elizabeth A Musgrove. 2010. “Distinct and Redundant Functions of Cyclin E1 and Cyclin E2 in Development and Cancer.” *Cell Division* 5 (1): 2. <https://doi.org/10.1186/1747-1028-5-2>.
- Calvo, Dominica, Martin Victor, Frédérique Gay, Guangchao Sui, Margaret Po-Shan Luke, Pascale Dufourcq, Gengyun Wen, Morris Maduro, Joel Rothman, and Yang Shi. 2001. “A POP-1 Repressor Complex Restricts Inappropriate Cell Type-Specific Gene Transcription during *Caenorhabditis Elegans* Embryogenesis.” *EMBO Journal* 20 (24): 7197–7208. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.24.7197>.
- Cao, Liang, Barbara Faha, Marlene Dembski, Li-Huei Tsai, Ed Harlow, and Nicholas Dyson. 1992. “Independent Binding of the Retinoblastoma Protein and p 107 to the Transcription Factor E2F.”
- Carberry, Katrin, Tobias Wiesenfahrt, Reinhard Windoffer, Olaf Bossinger, and Rudolf E. Leube. 2009. “Intermediate Filaments in *Caenorhabditis Elegans*.” *Cell Motility* 66 (10): 852–64. <https://doi.org/10.1002/cm.20372>.
- Chervitz, Stephen A, L Aravind, Gavin Sherlock, Catherine A Ball, Eugene V Koonin, Selina S Dwight, Midori A Harris, et al. 1998. “Comparison of the Complete Protein Sets of Worm and Yeast: Orthology and Divergence.” *Science* 282 (5396): 2022–28. <https://doi.org/10.1126/science.282.5396.2022>.
- Chibazakura, Taku, Kazuhiro Kamachi, Mayu Ohara, Shoji Tane, Hirofumi Yoshikawa, and James M Roberts. 2011. “Cyclin A Promotes S-Phase Entry via Interaction with the Replication Licensing Factor Mcm7.” *Molecular and Cellular Biology* 31 (2): 248–55. <https://doi.org/10.1128/mcb.00630-10>.
- Choi, Hailey, Gina Broitman-Maduro, and Morris F. Maduro. 2017. “Partially Compromised Specification Causes Stochastic Effects on Gut Development in *C. Elegans*.” *Developmental Biology* 427 (1): 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.05.007>.
- Chung, Mingyu, Chad Liu, Hee Won Yang, Marielle S. Köberlin, Steven D. Cappell, and Tobias Meyer. 2019. “Transient Hysteresis in CDK4/6 Activity Underlies Passage of the Restriction Point in G1.” *Molecular Cell* 76 (4): 562–573.e4. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.08.020>.
- Clucas, Caroline. 2002. “Oncogenic Potential of a *C.Elegans* *cdc25* Gene Is Demonstrated by a Gain-of-Function Allele.” *The EMBO Journal* 21 (4): 665–74.

<https://doi.org/10.1093/emboj/21.4.665>.

- Coch, Richard, and Rudolf Leube. 2016. "Intermediate Filaments and Polarization in the Intestinal Epithelium." *Cells* 5 (3): 32. <https://doi.org/10.3390/cells5030032>.
- Cockburn, Katie, Karl Annusver, David G. Gonzalez, Smirthy Ganesan, Dennis P. May, Kailin R. Mesa, Kyogo Kawaguchi, Maria Kasper, and Valentina Greco. 2022. "Gradual Differentiation Uncoupled from Cell Cycle Exit Generates Heterogeneity in the Epidermal Stem Cell Layer." *Nature Cell Biology* 24 (12): 1692–1700. <https://doi.org/10.1038/s41556-022-01021-8>.
- Coller, Hilary A, Liyun Sang, and James M Roberts. 2006. "A New Description of Cellular Quiescence." *PLoS Biology* 4 (3): 0329–49. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040083>.
- Crncec, Adrijana, and Helfrid Hochegger. 2019. "Triggering Mitosis." <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13635>.
- Croce, Assunta, Giuseppe Cassata, Andrea Disanza, Maria Cristina Gagliani, Carlo Tacchetti, Maria Grazia Malabarba, Marie-France Carlier, Giorgio Scita, Ralf Baumeister, and Pier Paolo Di Fiore. 2004. "A Novel Actin Barbed-End-Capping Activity in EPS-8 Regulates Apical Morphogenesis in Intestinal Cells of *Caenorhabditis Elegans*." *Nature Cell Biology* 6 (12): 1173–79. <https://doi.org/10.1038/ncb1198>.
- Cukier, I. Howard, Yun Li, and Jonathan M. Lee. 2007. "Cyclin B1/Cdk1 Binds and Phosphorylates Filamin A and Regulates Its Ability to Cross-link Actin." *FEBS Letters* 581 (8): 1661–72. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.03.041>.
- Davidson, Eric H. 1991. "Spatial Mechanisms of Gene Regulation in Metazoan Embryos." *Development* 113 (1): 1–26. <https://doi.org/10.1242/dev.113.1.1>.
- Demouchy, Flora, Ophélie Nicolle, Grégoire Michaux, and Anne Pacquelet. 2024. "PAR-4/LKB1 Prevents Intestinal Hyperplasia by Restricting Endoderm Specification in *Caenorhabditis Elegans* Embryos." *Development* 151 (1). <https://doi.org/10.1242/dev.202205>.
- Devault, A., A. M. Martinez, D. Fesquet, J. C. Labbé, N. Morin, J. P. Tassan, E. A. Nigg, J. C. Cavadore, and M. Dorée. 1995. "MAT1 ('Menage à Trois') a New RING Finger Protein Subunit Stabilizing Cyclin H-Cdk7 Complexes in Starfish and *Xenopus* CAK." *The EMBO Journal* 14 (20): 5027–36. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb00185.x>.
- Dineen, Aidan, Erin Osborne Nishimura, Barbara Goszczynski, Joel H. Rothman, and James D. McGhee. 2018. "Quantitating Transcription Factor Redundancy: The Relative Roles of the ELT-2 and ELT-7 GATA Factors in the *C. Elegans* Endoderm." *Developmental Biology* 435 (2): 150–61. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.12.023>.
- Dunphy, William G., and Akiko Kumagai. 1991. "The Cdc25 Protein Contains an Intrinsic Phosphatase Activity." *Cell* 67 (1): 189–96. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90582-J](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90582-J).
- Eaton, Suzanne, and Fernando Martin-Belmonte. 2014. "Cargo Sorting in the Endocytic Pathway: A Key Regulator of Cell Polarity and Tissue Dynamics." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 6 (10): a016899–a016899. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016899>.
- Edgar, Lois G., and James D. McGhee. 1988. "DNA Synthesis and the Control of Embryonic Gene Expression in *C. Elegans*." *Cell* 53 (4): 589–99. <https://doi.org/10.1016/0092->



- Eliazer, Susan, Jonathon M. Muncie, Josef Christensen, Xuefeng Sun, Rebecca S. D’Urso, Valerie M. Weaver, and Andrew S. Brack. 2019. “Wnt4 from the Niche Controls the Mechano-Properties and Quiescent State of Muscle Stem Cells.” *Cell Stem Cell* 25 (5): 654–665.e4. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.08.007>.
- Ertl, Iris, Montserrat Porta-De-La-Riva, Eva Gómez-Orte, Karinna Rubio-Peña, Davidaristizábal Corrales, Eric Cornes, Laura Fontrodona, et al. 2016. “Functional Interplay of Two Paralogs Encoding SWI/SNF Chromatin-Remodeling Accessory Subunits during *Caenorhabditis Elegans* Development.” *Genetics* 202 (3): 961–75. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.183533>.
- Farrell, Jeffrey A, and Patrick H. O’Farrell. 2014. “From Egg to Gastrula: How the Cell Cycle Is Remodeled during the *Drosophila* Mid-Blastula Transition.” *Annual Review of Genetics* 48: 269–94. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-111212-133531>.
- Fischer, Martin, and Gerd A. Müller. 2017. “Cell Cycle Transcription Control: DREAM/MuvB and RB-E2F Complexes.” *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 52 (6): 638–62. <https://doi.org/10.1080/10409238.2017.1360836>.
- Fiszbein, Ana, and Alberto R Kornblihtt. 2017. “Alternative Splicing Switches: Important Players in Cell Differentiation.” *BioEssays* 39 (6). <https://doi.org/10.1002/bies.201600157>.
- Fujimitsu, Kazuyuki, Margaret Grimaldi, and Hiroyuki Yamano. 2016. “Cyclin-Dependent Kinase 1 – Dependent Activation of APC/C Ubiquitin Ligase,” 1121–24.
- Fujita, Masaki, Hisako Takeshita, and Hitoshi Sawa. 2007. “Cyclin E and CDK2 Repress the Terminal Differentiation of Quiescent Cells after Asymmetric Division in *C. Elegans*.” *PLoS ONE* 2 (5): 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000407>.
- Fukushige, Tetsunari. 1998. “The GATA-Factor *elt-2* Is Essential for Formation of The *Caenorhabditis Elegans* Intestine.” *Developmental Biology* 198 (2): 286–302. <https://doi.org/10.1006/dbio.1998.8899>.
- Fukushige, Tetsunari, Michael J. Hendzel, David P. Bazett-Jones, and James D. McGhee. 1999. “Direct Visualization of the *Elt-2* Gut-Specific GATA Factor Binding to a Target Promoter inside the Living *Caenorhabditis Elegans* Embryo.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96 (21): 11883–88. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.21.11883>.
- Furden, Daniela van, Kevin Johnson, Christoph Segbert, and Olaf Bossinger. 2004. “The *C. Elegans* Ezrin-Radixin-Moesin Protein ERM-1 Is Necessary for Apical Junction Remodelling and Tubulogenesis in the Intestine.” *Developmental Biology* 272 (1): 262–76. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.05.012>.
- Giorgio, Eros Di, Enrico Gagliostro, Andrea Clocchiatti, and Claudio Brancolini. 2015. “The Control Operated by the Cell Cycle Machinery on MEF2 Stability Contributes to the Downregulation of CDKN1A and Entry into S Phase.” *Molecular and Cellular Biology* 35 (9): 1633–47. <https://doi.org/10.1128/mcb.01461-14>.
- Göbel, Verena, Peter L. Barrett, David H. Hall, and John T. Fleming. 2004. “Lumen Morphogenesis in *C. Elegans* Requires the Membrane-Cytoskeleton Linker Erm-1.” *Developmental Cell* 6 (6): 865–73. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.05.018>.
- Goldstein, Bob. 1992. “Induction of Gut in *Caenorhabditis Elegans* Embryos.” *Nature* 357

(6375): 255–57. <https://doi.org/10.1038/357255a0>.

- Gomathi, K., N. Akshaya, N. Srinaath, A. Moorthi, and N. Selvamurugan. 2020. “Regulation of Runx2 by Post-Translational Modifications in Osteoblast Differentiation.” *Life Sciences* 245 (January): 117389. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117389>.
- Gooijer, Mark C. de, Arnout van den Top, Irena Bockaj, Jos H. Beijnen, Thomas Würdinger, and Olaf van Tellingen. 2017. “The G2 Checkpoint—a Node-based Molecular Switch.” *FEBS Open Bio* 7 (4): 439–55. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12206>.
- Grebien, Florian, Helmut Dolznig, Hartmut Beug, and Ernst W. Mullner. 2005. “Cell Size Control: New Evidence for a General Mechanism.” *Cell Cycle* 4 (3): 418–21. <https://doi.org/10.4161/cc.4.3.1523>.
- Grimm-Günter, Eva-Maria S., Céline Revenu, Sonia Ramos, Ilse Hurbain, Neil Smyth, Evelyne Ferrary, Daniel Louvard, Sylvie Robine, and Francisco Rivero. 2009. “Plastin 1 Binds to Keratin and Is Required for Terminal Web Assembly in the Intestinal Epithelium.” Edited by Thomas D. Pollard. *Molecular Biology of the Cell* 20 (10): 2549–62. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-10-1030>.
- Hämmerle, Barbara, Edgar Ulin, Jordi Guimera, Walter Becker, François Guillemot, and Francisco J. Tejedor. 2011. “Transient Expression of Mnb/Dyrk1a Couples Cell Cycle Exit and Differentiation of Neuronal Precursors by Inducing P27KIP1 Expression and Suppressing NOTCH Signaling.” *Development* 138 (12): 2543–54. <https://doi.org/10.1242/dev.066167>.
- Hardwick, Laura J.A., and Anna Philpott. 2014. “Nervous Decision-Making: To Divide or Differentiate.” *Trends in Genetics* 30 (6): 254–61. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.04.001>.
- Heinze, Svenia D., Simon Berger, Stefanie Engleitner, Michael Daube, and Alex Hajnal. 2023. “Prolonging Somatic Cell Proliferation through Constitutive Hox Gene Expression in *C. Elegans*.” *Nature Communications* 14 (1): 6850. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42644-1>.
- Hertzog, Maud, Francesca Milanesi, Larnele Hazelwood, Andrea Disanza, HongJun Liu, Emilie Perlade, Maria Grazia Malabarba, et al. 2010. “Molecular Basis for the Dual Function of Eps8 on Actin Dynamics: Bundling and Capping.” Edited by Manfred Schliwa. *PLoS Biology* 8 (6): e1000387. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000387>.
- Hirano, Yoshinori, Sosuke Yoshinaga, Ryu Takeya, Nobuo N. Suzuki, Masataka Horiuchi, Motoyuki Kohjima, Hideki Sumimoto, and Fuyuhiko Inagaki. 2005. “Structure of a Cell Polarity Regulator, a Complex between Atypical PKC and Par6 PB1 Domains.” *Journal of Biological Chemistry* 280 (10): 9653–61. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409823200>.
- Huang, Cheng-Rung, Cheng-Ju Kuo, Chih-Wen Huang, Yu-Ting Chen, Bang-Yu Liu, Chung-Ta Lee, Po-Lin Chen, et al. 2021. “Host CDK-1 and Formin Mediate Microvillar Effacement Induced by Enterohemorrhagic *Escherichia Coli*.” *Nature Communications* 12 (1): 90. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20355-1>.
- Hwang, Yung, Melinda Futran, Daniel Hidalgo, Ramona Pop, Divya Ramalingam Iyer, Ralph Scully, Nicholas Rhind, and Merav Socolovsky. 2017. “Global Increase in Replication Fork Speed during a P57KIP2-Regulated Erythroid Cell Fate Switch.” *Science Advances* 3 (5): 1–15. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700298>.

- Ishidate, Takao, Soyoung Kim, Craig C Mello, and Masaki Shirayama. 2013. “Inductive Asymmetric Cell Division.” *Worm* 2 (4): e26276. <https://doi.org/10.4161/worm.26276>.
- Kassis, Judith A, James A Kennison, and John W Tamkun. 2017. “Polycomb and Trithorax Group Genes in *Drosophila*.” *Genetics* 206 (4): 1699–1725. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.185116>.
- Katsuno, Yuko, Ayumi Suzuki, Kazuto Sugimura, Katsuzumi Okumura, Doaa H. Zineldeen, Midori Shimada, Hiroyuki Niida, Takeshi Mizuno, Fumio Hanaoka, and Makoto Nakanishi. 2009. “Cyclin A-Cdk1 Regulates the Origin Firing Program in Mammalian Cells.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (9): 3184–89. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809350106>.
- Kia, Sima Kheradmand, Marcin M. Gorski, Stavros Giannakopoulos, and C. Peter Verrijzer. 2008. “SWI/SNF Mediates Polycomb Eviction and Epigenetic Reprogramming of the INK4b-ARF-INK4a Locus .” *Molecular and Cellular Biology* 28 (10): 3457–64. <https://doi.org/10.1128/mcb.02019-07>.
- Kim, Soyoung, Takao Ishidate, Rita Sharma, Martha C Soto, Darryl Conte, Craig C Mello, and Masaki Shirayama. 2013. “Wnt and CDK-1 Regulate Cortical Release of WRM-1/  $\beta$ -Catenin to Control Cell Division Orientation in Early *Caenorhabditis Elegans* Embryos.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (10). <https://doi.org/10.1073/pnas.1300769110>.
- Kitzmann, Magali, Marie Vandromme, Valerie Schaeffer, Gilles Carnac, Jean-Claude Labbé, Ned Lamb, and Anne Fernandez. 1999. “Cdk1- and Cdk2-Mediated Phosphorylation of MyoD Ser200 in Growing C2 Myoblasts: Role in Modulating MyoD Half-Life and Myogenic Activity.” *Molecular and Cellular Biology* 19 (4): 3167–76. <https://doi.org/10.1128/mcb.19.4.3167>.
- Kostić, Ivana, Shaolin Li, and Richard Roy. 2003. “Cki-1 Links Cell Division and Cell Fate Acquisition in the *C. Elegans* Somatic Gonad.” *Developmental Biology* 263 (2): 242–52. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.07.001>.
- Kostić, Ivana, and Richard Roy. 2002. “Organ-Specific Cell Division Abnormalities Caused by Mutation in a General Cell Cycle Regulator in *C. Elegans*.” *Development* 129 (9): 2155–65. <https://doi.org/10.1242/dev.129.9.2155>.
- Krüger, Angela V., Rob Jelier, Oleh Dzyubachyk, Timo Zimmerman, Erik Meijering, and Ben Lehner. 2015. “Comprehensive Single Cell-Resolution Analysis of the Role of Chromatin Regulators in Early *C. Elegans* Embryogenesis.” *Developmental Biology* 398 (2): 153–62. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.10.014>.
- Kumagai, Akiko, and William G. Dunphy. 1991. “The Cdc25 Protein Controls Tyrosine Dephosphorylation of the Cdc2 Protein in a Cell-Free System.” *Cell* 64 (5): 903–14. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90315-P](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90315-P).
- Kuwahara, Yasumichi, Aubri Charboneau, Erik S. Knudsen, and Bernard E. Weissman. 2010. “Reexpression of HSNF5 in Malignant Rhabdoid Tumor Cell Lines Causes Cell Cycle Arrest through a P21CIP1/WAF1-Dependent Mechanism.” *Cancer Research* 70 (5): 1854–65. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1922>.
- Kuwahara, Yasumichi, Darmood Wei, Joel Durand, and Bernard E. Weissman. 2013. “SNF5 Reexpression in Malignant Rhabdoid Tumors Regulates Transcription of Target Genes by Recruitment of SWI/SNF Complexes and RNAPII to the Transcription Start Site of Their

- Promoters.” *Molecular Cancer Research* 11 (3): 251–60. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-12-0390>.
- Labbé, J.C., A.M. Martinez, D. Fesquet, J.P. Capony, J.M. Darbon, J. Derancourt, A. Devault, N. Morin, J.C. Cavadore, and M. Dorée. 1994. “P40MO15 Associates with a P36 Subunit and Requires Both Nuclear Translocation and Thr176 Phosphorylation to Generate Cdk-Activating Kinase Activity in *Xenopus* Oocytes.” *The EMBO Journal* 13 (21): 5155–64. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06845.x>.
- Lacomme, Marine, Laurence Liaubet, Fabienne Pituello, and Sophie Bel-Vialar. 2012. “NEUROG2 Drives Cell Cycle Exit of Neuronal Precursors by Specifically Repressing a Subset of Cyclins Acting at the G 1 and S Phases of the Cell Cycle .” *Molecular and Cellular Biology* 32 (13): 2596–2607. <https://doi.org/10.1128/mcb.06745-11>.
- Laugesen, Anne, and Kristian Helin. 2014. “Chromatin Repressive Complexes in Stem Cells, Development, and Cancer.” *Cell Stem Cell* 14 (6): 735–51. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.05.006>.
- Lazaro, Jean Bernard, Peter J. Bailey, and Andrew B. Lassar. 2002. “Cyclin D-Cdk4 Activity Modulates the Subnuclear Localization and Interaction of MEF2 with SRC-Family Coactivators during Skeletal Muscle Differentiation.” *Genes and Development* 16 (14): 1792–1805. <https://doi.org/10.1101/gad.U-9988R>.
- Lee, Jen-Yi, Daniel J. Marston, Timothy Walston, Jeff Hardin, Ari Halberstadt, and Bob Goldstein. 2006. “Wnt/Frizzled Signaling Controls C. Elegans Gastrulation by Activating Actomyosin Contractility.” *Current Biology* 16 (20): 1986–97. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.08.090>.
- Lee, Miler T, Ashley R Bonneau, and Antonio J Giraldez. 2014. “Zygotic Genome Activation during the Maternal-to-Zygotic Transition.” *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013027>.
- Lee, Yong-Uk, Miseol Son, Jiyoung Kim, Yhong-Hee Shim, and Ichiro Kawasaki. 2016. “CDC-25.2, a C. Elegans Ortholog of Cdc25 , Is Essential for the Progression of Intestinal Divisions.” *Cell Cycle* 15 (5): 654–66. <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1146839>.
- Lessard, Julie, Jiang I. Wu, Jeffrey A. Ranish, Mimi Wan, Monte M. Winslow, Brett T. Staahl, Hai Wu, Ruedi Aebersold, Isabella A. Graef, and Gerald R. Crabtree. 2007. “An Essential Switch in Subunit Composition of a Chromatin Remodeling Complex during Neural Development.” *Neuron* 55 (2): 201–15. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.06.019>.
- Leung, Ben, Greg J. Hermann, and James R. Priess. 1999. “Organogenesis of the *Caenorhabditis Elegans* Intestine.” *Developmental Biology* 216 (1): 114–34. <https://doi.org/10.1006/dbio.1999.9471>.
- Levenberg, Shulamit, Anat Yarden, Zvi Kam, and Benjamin Geiger. 1999. “P27 Is Involved in N-Cadherin-Mediated Contact Inhibition of Cell Growth and S-Phase Entry.” *Oncogene* 18 (4): 869–76. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202396>.
- Li, Jin, Heon Kim, Donato G. Aceto, Jeffrey Hung, Shinya Aono, and Kenneth J. Kemphues. 2010. “Binding to PKC-3, but Not to PAR-3 or to a Conventional PDZ Domain Ligand, Is Required for PAR-6 Function in C. Elegans.” *Developmental Biology* 340 (1): 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.01.023>.
- Lickert, Heiko, Jun K. Takeuchi, Ingo von Both, Johnathon R. Walls, Fionnuala McAuliffe, S.

- Lee Adamson, R. Mark Henkelman, Jeffrey L. Wrana, Janet Rossant, and Benoit G. Bruneau. 2004. “Baf60c Is Essential for Function of BAF Chromatin Remodelling Complexes in Heart Development.” *Nature* 432 (7013): 107–12. <https://doi.org/10.1038/nature03071>.
- Lim, Daniel A, Yin Cheng Huang, Tomek Swigut, Anika L Mirick, Jose Manuel Garcia-Verdugo, Joanna Wysocka, Patricia Ernst, and Arturo Alvarez-Buylla. 2009. “Chromatin Remodelling Factor Mll1 Is Essential for Neurogenesis from Postnatal Neural Stem Cells.” *Nature* 458 (7237): 529–33. <https://doi.org/10.1038/nature07726>.
- Liu, Jun, and John Isaac Murray. 2023. “Mechanisms of Lineage Specification in *Caenorhabditis Elegans*.” Edited by G Seydoux. *GENETICS* 225 (4): 1–47. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad174>.
- Liu, Kai, Rui Lu, Qi Zhao, Jiaying Du, Yuwei Li, Mingying Zheng, and Shiwu Zhang. 2020. “Association and Clinicopathologic Significance of P38MAPK-ERK-JNK-CDC25C with Polyploid Giant Cancer Cell Formation.” *Medical Oncology* 37 (1). <https://doi.org/10.1007/s12032-019-1330-9>.
- Liu, Kai, Mingying Zheng, Rui Lu, Jiaying Du, Qi Zhao, Zugui Li, Yuwei Li, and Shiwu Zhang. 2020. “The Role of CDC25C in Cell Cycle Regulation and Clinical Cancer Therapy: A Systematic Review.” *Cancer Cell International* 20 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01304-w>.
- Lobjois, Valérie, Sophie Bel-Vialar, Françoise Trousse, and Fabienne Pituello. 2008. “Forcing Neural Progenitor Cells to Cycle Is Insufficient to Alter Cell-Fate Decision and Timing of Neuronal Differentiation in the Spinal Cord.” *Neural Development* 3 (1). <https://doi.org/10.1186/1749-8104-3-4>.
- Lobjois, Valérie, Bertrand Benazeraf, Nicolas Bertrand, François Medevielle, and Fabienne Pituello. 2004. “Specific Regulation of Cyclins D1 and D2 by FGF and Shh Signaling Coordinates Cell Cycle Progression, Patterning, and Differentiation during Early Steps of Spinal Cord Development.” *Developmental Biology* 273 (2): 195–209. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.05.031>.
- Lukaszewicz, Agnès I., and David J. Anderson. 2011. “Cyclin D1 Promotes Neurogenesis in the Developing Spinal Cord in a Cell Cycle-Independent Manner.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (28): 11632–37. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106230108>.
- Maduro, Morris F., Gina Broitman-Maduro, Isabella Mengarelli, and Joel H. Rothman. 2007. “Maternal Deployment of the Embryonic SKN-1 → MED-1,2 Cell Specification Pathway in *C. Elegans*.” *Developmental Biology* 301 (2): 590–601. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.08.029>.
- Maduro, Morris F., Russell J. Hill, Paul J. Heid, Erin D. Newman-Smith, Jiangwen Zhu, James R. Priess, and Joel H. Rothman. 2005. “Genetic Redundancy in Endoderm Specification within the Genus *Caenorhabditis*.” *Developmental Biology* 284 (2): 509–22. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.05.016>.
- Maduro, Morris F., Rueyling Lin, and Joel H. Rothman. 2002. “Dynamics of a Developmental Switch: Recursive Intracellular and Intranuclear Redistribution of *Caenorhabditis Elegans* POP-1 Parallels Wnt-Inhibited Transcriptional Repression.” *Developmental Biology* 248 (1): 128–42. <https://doi.org/10.1006/dbio.2002.0721>.

- Maduro, Morris F., Marc D. Meneghini, Bruce Bowerman, Gina Broitman-Maduro, and Joel H. Rothman. 2001. "Restriction of Mesendoderm to a Single Blastomere by the Combined Action of SKN-1 and a GSK-3 $\beta$  Homolog Is Mediated by MED-1 and -2 in *C. Elegans*." *Molecular Cell* 7 (3): 475–85. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(01\)00195-2](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(01)00195-2).
- Mar, Jordan, Kalpana Makhijani, Denise Flaherty, and Krishna Moorthi Bhat. 2022. "Nuclear Prospero Allows One-Division Potential to Neural Precursors and Post-Mitotic Status to Neurons via Opposite Regulation of Cyclin E." Edited by Claude Desplan. *PLOS Genetics* 18 (8): e1010339. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010339>.
- Martin, Xabier de, Reza Sodaei, and Gabriel Santpere. 2021. "Mechanisms of Binding Specificity among Bhlh Transcription Factors." *International Journal of Molecular Sciences* 22 (17). <https://doi.org/10.3390/ijms22179150>.
- Martínez-Limón, Adrián, Manel Joaquin, María Caballero, Francesc Posas, and Eulàlia de Nadal. 2020. "The P38 Pathway: From Biology to Cancer Therapy." *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms21061913>.
- Matthews, Helen K., Cosetta Bertoli, and Robertus A.M. de Bruin. 2022. "Cell Cycle Control in Cancer." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 23 (1): 74–88. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>.
- Maurange, Cédric, Louise Cheng, and Alex P. Gould. 2008. "Temporal Transcription Factors and Their Targets Schedule the End of Neural Proliferation in *Drosophila*." *Cell* 133 (5): 891–902. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.034>.
- Mcdowell, Gary S, Christopher J Hindley, Guy Lippens, Isabelle Landrieu, and Anna Philpott. 2014. "Phosphorylation in Intrinsically Disordered Regions Regulates the Activity of Neurogenin2." <https://doi.org/10.1186/s12858-014-0024-3>.
- McGhee, James D., Tetsunari Fukushige, Michael W. Krause, Stephanie E. Minnema, Barbara Goszczynski, Jeb Gaudet, Yuji Kohara, et al. 2009. "ELT-2 Is the Predominant Transcription Factor Controlling Differentiation and Function of the *C. Elegans* Intestine, from Embryo to Adult." *Developmental Biology* 327 (2): 551–65. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.11.034>.
- McGhee, James D., Monica C. Sleumer, Mikhail Bilenky, Kim Wong, Sheldon J. McKay, Barbara Goszczynski, Helen Tian, et al. 2007. "The ELT-2 GATA-Factor and the Global Regulation of Transcription in the *C. Elegans* Intestine." *Developmental Biology* 302 (2): 627–45. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.10.024>.
- Mendenhall, Alexander, Matthew M Crane, Scott Leiser, George Sutphin, Patricia M Tedesco, Matt Kaeberlein, Thomas E Johnson, and Roger Brent. 2017. "Environmental Canalization of Life Span and Gene Expression in *Caenorhabditis Elegans*." *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences* 72 (8): 1033–37. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx017>.
- Mir, Mustafa, Zhuo Wang, Zhen Shen, Michael Bednarz, Rashid Bashir, Ido Golding, Supriya G Prasanth, and Gabriel Popescu. 2011. "Optical Measurement of Cycle-Dependent Cell Growth." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (32): 13124–29. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100506108>.
- Morgan, David O. 1995. "Principles of CDK Regulation." *Nature* 374 (6518): 131–34. <https://doi.org/10.1038/374131a0>.

- Müller, Jürg, Craig M. Hart, Nicole J. Francis, Marcus L. Vargas, Aditya Sengupta, Brigitte Wild, Ellen L. Miller, Michael B. O'Connor, Robert E. Kingston, and Jeffrey A. Simon. 2002. "Histone Methyltransferase Activity of a Drosophila Polycomb Group Repressor Complex." *Cell* 111 (2): 197–208. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00976-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00976-5).
- Murray, John Isaac, Elicia Preston, Jeremy P Crawford, Jonathan D Rumley, Prativa Amom, Breana D Anderson, Priya Sivaramakrishnan, et al. 2022. "The Anterior Hox Gene Ceh-13 and Elt-1/GATA Activate the Posterior Hox Genes Nob-1 and Php-3 to Specify Posterior Lineages in the C. Elegans Embryo." Edited by Jeremy Nance. *PLOS Genetics* 18 (5): e1010187. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010187>.
- Nacht, Ana Silvina, Andy Pohl, Roser Zaurin, Daniel Soronellas, Javier Quilez, Priyanka Sharma, Roni H Wright, Miguel Beato, and Guillermo P Vicent. 2016. "Hormone-Induced Repression of Genes Requires BRG1-Mediated H1.2 Deposition at Target Promoters." *The EMBO Journal* 35: 1822–43. <https://doi.org/10.15252/embj.201593260>.
- Nair, Gautham, Travis Walton, John Isaac Murray, and Arjun Raj. 2013. "Gene Transcription Is Coordinated with, but Not Dependent on, Cell Divisions during C. Elegans Embryonic Fate Specification." *Development* 140 (16): 3385–94. <https://doi.org/10.1242/dev.098012>.
- Nakamura, Kuniaki, Soyoung Kim, Takao Ishidate, Yanxia Bei, Kaming Pang, Masaki Shirayama, Chris Trzepacz, Daniel R Brownell, and Craig C Mello. 2005. "Wnt Signaling Drives WRM-1/ $\beta$ -Catenin Asymmetries in Early C. Elegans Embryos." *Genes & Development* 19 (15): 1749–54. <https://doi.org/10.1101/gad.1323705>.
- Nakayama, Keiichi I., and Keiko Nakayama. 2005. "Regulation of the Cell Cycle by SCF-Type Ubiquitin Ligases." *Seminars in Cell and Developmental Biology* 16 (3): 323–33. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2005.02.010>.
- Naturale, Victor F., Melissa A. Pickett, and Jessica L. Feldman. 2023. "Persistent Cell Contacts Enable E-Cadherin/HMR-1- and PAR-3-Based Symmetry Breaking within a Developing C. Elegans Epithelium." *Developmental Cell* 58 (19): 1830-1846.e12. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2023.07.008>.
- Nguyen, Laurent, Arnaud Besson, Julian Ik-tsen Heng, Carol Schuurmans, Lydia Teboul, Carlos Parras, Anna Philpott, James M Roberts, and François Guillemot. 2006. "Differentiation and Migration in the Cerebral Cortex." *Genes & Development*, 1511–24. <https://doi.org/10.1101/gad.377106.Cyclin-dependent>.
- Nielsen, Soren J., Robert Schneider, Uta Maria Bauer, Andrew J. Bannister, Ashby Morrison, Donal O'Carroll, Ron Firestein, et al. 2001. "Rb Targets Histone H3 Methylation and HP1 to Promoters." *Nature* 412 (6846): 561–65. <https://doi.org/10.1038/35087620>.
- Ortega, Sagrario, Marcos Malumbres, and Mariano Barbacid. 2002. "Cyclin D-Dependent Kinases, INK4 Inhibitors and Cancer." *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* 1602 (1): 73–87. [https://doi.org/10.1016/S0304-419X\(02\)00037-9](https://doi.org/10.1016/S0304-419X(02)00037-9).
- Owraghi, Melissa, Gina Broitman-Maduro, Thomas Luu, Heather Roberson, and Morris F. Maduro. 2010. "Roles of the Wnt Effector POP-1/TCF in the C. Elegans Endomesoderm Specification Gene Network." *Developmental Biology* 340 (2): 209–21. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.09.042>.
- Pálfy, Máté, Shai R. Joseph, and Nadine L. Vastenhouw. 2017. "The Timing of Zygotic Genome Activation." *Current Opinion in Genetics and Development* 43: 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.12.001>.

- Papetti, Michael, Sandeep N. Wontakal, Tomas Stopka, and Arthur I. Skoultchi. 2010. "GATA-1 Directly Regulates P21 Gene Expression during Erythroid Differentiation." *Cell Cycle*. <https://doi.org/10.4161/cc.9.10.11602>.
- Park, Morgan, and Michael W. Krause. 1999. "Regulation of Postembryonic G1 Cell Cycle Progression in *Caenorhabditis Elegans* by a Cyclin D/CDK-like Complex." *Development* 126 (21): 4849–60. <https://doi.org/10.1242/dev.126.21.4849>.
- Parker, Laura L, and Helen Piwnica-Worms. 1992. "Inactivation of the P34cdc2-Cyclin B Complex by the Human WEE1 Tyrosine Kinase." *Science* 257 (5078): 1955–57. <https://doi.org/10.1126/science.1384126>.
- Pateras, Ioannis S, Kalliopi Apostolopoulou, Katerina Niforou, Athanassios Kotsinas, and Vassilis G Gorgoulis. 2009. "P57 KIP2 : 'Kip'Ing the Cell under Control." *Mol Cancer Res* 7 (12): 1902–21. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-09-0317>.
- Pop, Ramona, Jeffrey R. Shearstone, Qichang Shen, Ying Liu, Kelly Hallstrom, Miroslav Koulis, Joost Gribnau, and Merav Socolovsky. 2010. "A Key Commitment Step in Erythropoiesis Is Synchronized with the Cell Cycle Clock through Mutual Inhibition between PU.1 and S-Phase Progression." *PLoS Biology* 8 (9). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000484>.
- Puri, Pier Lorenzo, and Mark Mercola. 2012. "BAF60 A, B, and Cs of Muscle Determination and Renewal." *Genes & Development* 26 (24): 2673–83. <https://doi.org/10.1101/gad.207415.112>.
- Ren, Shengjun, and Barrett J. Rollins. 2004. "Cyclin C/Cdk3 Promotes Rb-Dependent G0 Exit." *Cell* 117 (2): 239–51. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00300-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00300-9).
- Reynaud, Emmanuel G., Marie Pierre Leibovitch, Lionel A.J. Tintignac, Karine Pospel, Martine Guillier, and Serge A. Leibovitch. 2000. "Stabilization of MyoD by Direct Binding to P57Kip2." *Journal of Biological Chemistry* 275 (25): 18767–76. <https://doi.org/10.1074/jbc.M907412199>.
- Reynaud, Emmanuel G., Karine Pospel, Martine Guillier, Marie Pierre Leibovitch, and Serge A. Leibovitch. 1999. "P57 Kip2 Stabilizes the MyoD Protein by Inhibiting Cyclin E-Cdk2 Kinase Activity in Growing Myoblasts ." *Molecular and Cellular Biology* 19 (11): 7621–29. <https://doi.org/10.1128/mcb.19.11.7621>.
- Robertson, Scott M, Jessica Medina, and Rueyling Lin. 2014. "Uncoupling Different Characteristics of the *C. Elegans* E Lineage from Differentiation of Intestinal Markers." *PLoS ONE* 9 (9): 106309. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106309>.
- Rocheleau, Christian E, William D Downs, Rueyling Lin, Claudia Wittmann, Yanxia Bei, Yoon-Hee Cha, Mussa Ali, James R Priess, and Craig C Mello. 1997. "Wnt Signaling and an APC-Related Gene Specify Endoderm in Early *C. Elegans* Embryos." *Cell* 90 (4): 707–16. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80531-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80531-0).
- Roiz, Daniel, Juan Miguel Escobar-Restrepo, Philipp Leu, and Alex Hajnal. 2016. "The *C. Elegans* Hox Gene Lin-39 Controls Cell Cycle Progression during Vulval Development." *Developmental Biology* 418 (1): 124–34. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.07.018>.
- Roy, Sarah H., Joseph E. Clayton, Jenna Holmen, Eleanor Beltz, and R. Mako Saito. 2011. "Control of Cdc14 Activity Coordinates Cell Cycle and Development in *Caenorhabditis Elegans*." *Mechanisms of Development* 128 (7–10): 317–26.



<https://doi.org/10.1016/j.mod.2011.06.001>.

- Ruijtenberg, Suzan, and Sander van den Heuvel. 2016. “Coordinating Cell Proliferation and Differentiation: Antagonism between Cell Cycle Regulators and Cell Type-Specific Gene Expression.” *Cell Cycle* 15 (2): 196–212. <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1120925>.
- Ruijtenberg, Suzan, and Sander Van Den Heuvel. 2015. “G1/S Inhibitors and the SWI/SNF Complex Control Cell-Cycle Exit during Muscle Differentiation.” *Cell* 162 (2): 300–313. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.06.013>.
- Saito, R Mako, Audrey Perreault, Bethan Peach, John S Satterlee, and Sander van den Heuvel. 2004. “The CDC-14 Phosphatase Controls Developmental Cell-Cycle Arrest in *C. Elegans*.” *Nature Cell Biology* 6 (8): 777–83. <https://doi.org/10.1038/ncb1154>.
- Sampath, Srinath C, Srihari C Sampath, Andrew T V Ho, Stéphane Y Corbel, Joshua D Millstone, John Lamb, John Walker, Bernd Kinzel, Christian Schmedt, and Helen M Blau. 2018. “Induction of Muscle Stem Cell Quiescence by the Secreted Niche Factor Oncostatin M.” *Nature Communications* 9 (1): 1531. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03876-8>.
- Sanidas, Ioannis, Robert Morris, Katerina A. Fella, Purva H. Rumde, Myriam Boukhali, Eric C. Tai, David T. Ting, Michael S. Lawrence, Wilhelm Haas, and Nicholas J. Dyson. 2019. “A Code of Mono-Phosphorylation Modulates the Function of RB.” *Molecular Cell* 73 (5): 985-1000.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.01.004>.
- Schuettengruber, Bernd, Daniel Chourrout, Michel Vervoort, Benjamin Leblanc, and Giacomo Cavalli. 2007. “Genome Regulation by Polycomb and Trithorax Proteins.” *Cell* 128 (4): 735–45. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.009>.
- Schuettengruber, Bernd, Anne Marie Martinez, Nicola Iovino, and Giacomo Cavalli. 2011. “Trithorax Group Proteins: Switching Genes on and Keeping Them Active.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 12 (12): 799–814. <https://doi.org/10.1038/nrm3230>.
- Shetty, Premnath, Miao-Chia Lo, Scott M. Robertson, and Rueyling Lin. 2005. “*C. Elegans* TCF Protein, POP-1, Converts from Repressor to Activator as a Result of Wnt-Induced Lowering of Nuclear Levels.” *Developmental Biology* 285 (2): 584–92. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.07.008>.
- Shin, Tae Ho, Jun Yasuda, Christian E. Rocheleau, Rueyling Lin, Martha Soto, Yanxia Bei, Roger J. Davis, and Craig C. Mello. 1999. “MOM-4, a MAP Kinase Kinase Kinase-Related Protein, Activates WRM-1/LIT-1 Kinase to Transduce Anterior/Posterior Polarity Signals in *C. Elegans*.” *Molecular Cell* 4 (2): 275–80. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80375-5](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80375-5).
- Siatecka, Mirosława, Felix Lohmann, Sujin Bao, and James J Bieker. 2010. “EKLF Directly Activates the P21 WAF1/CIP1 Gene by Proximal Promoter and Novel Intronic Regulatory Regions during Erythroid Differentiation.” *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY* 30 (11): 2811–22. <https://doi.org/10.1128/MCB.01016-09>.
- Slifer, Eleanor H. 1942. “A Mutant Stock of *Drosophila* with Extra Sex-combs.” *Journal of Experimental Zoology* 90 (1): 31–40. <https://doi.org/10.1002/jez.1400900103>.
- Sommermann, Erica M., Keith R. Strohmaier, Morris F. Maduro, and Joel H. Rothman. 2010. “Endoderm Development in *Caenorhabditis Elegans*: The Synergistic Action of ELT-2

- and -7 Mediates the Specification→differentiation Transition.” *Developmental Biology* 347 (1): 154–66. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.08.020>.
- Song, An, Qi Wang, Mark G. Goebel, and Maureen A. Harrington. 1998. “Phosphorylation of Nuclear MyoD Is Required for Its Rapid Degradation.” *Molecular and Cellular Biology* 18 (9): 4994–99. <https://doi.org/10.1128/mcb.18.9.4994>.
- Sulston, J.E., and H.R. Horvitz. 1977. “Post-Embryonic Cell Lineages of the Nematode, *Caenorhabditis Elegans*.” *Developmental Biology* 56 (1): 110–56. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(77\)90158-0](https://doi.org/10.1016/0012-1606(77)90158-0).
- Sulston, J.E., E. Schierenberg, J.G. White, and J.N. Thomson. 1983. “The Embryonic Cell Lineage of the Nematode *Caenorhabditis Elegans*.” *Developmental Biology* 100 (1): 64–119. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(83\)90201-4](https://doi.org/10.1016/0012-1606(83)90201-4).
- Sun, Dan, and Laura Buttitta. 2017. “States of G0 and the Proliferation-Quiescence Decision in Cells, Tissues and during Development.” *International Journal of Developmental Biology* 61 (6–7): 357–66. <https://doi.org/10.1387/ijdb.160343LB>.
- Tadros, Wael, and Howard D Lipshitz. 2009. “The Maternal-to-Zygotic Transition: A Play in Two Acts.” *Development* 136 (18): 3033–42. <https://doi.org/10.1242/dev.033183>.
- Tavernier, N., Y. Thomas, S. Vigneron, P. Maisonneuve, S. Orlicky, P. Mader, S. G. Regmi, et al. 2021. “Bora Phosphorylation Substitutes in Trans for T-Loop Phosphorylation in Aurora A to Promote Mitotic Entry.” *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21922-w>.
- The *C. elegans* Sequencing Consortium. 1998. “Genome Sequence of the Nematode *C. Elegans*: A Platform for Investigating Biology.” *Science* 282 (5396): 2012–18. <https://doi.org/10.1126/science.282.5396.2012>.
- Thorpe, Christopher J., Ann Schlesinger, J. Clayton Carter, and Bruce Bowerman. 1997. “Wnt Signaling Polarizes an Early *C. Elegans* Blastomere to Distinguish Endoderm from Mesoderm.” *Cell* 90 (4): 695–705. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80530-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80530-9).
- Tintignac, Lionel A., Marie Pierre Leibovitch, Magali Kitzmann, Anne Fernandez, Bernard Ducommun, Laurent Meijer, and Serge A. Leibovitch. 2000. “Cyclin E–Cdk2 Phosphorylation Promotes Late G1-Phase Degradation of MyoD in Muscle Cells.” *Experimental Cell Research* 259 (1): 300–307. <https://doi.org/10.1006/excr.2000.4973>.
- Tomic, Goran, Edward Morrissey, Sarah Kozar, Shani Ben-Moshe, Alice Hoyle, Roberta Azzarelli, Richard Kemp, et al. 2018. “Phospho-Regulation of ATOH1 Is Required for Plasticity of Secretory Progenitors and Tissue Regeneration.” *Cell Stem Cell* 23 (3): 436–443.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.07.002>.
- Totong, Ronald, Annita Achilleos, and Jeremy Nance. 2007. “PAR-6 Is Required for Junction Formation but Not Apicobasal Polarization in *C. Elegans* Embryonic Epithelial Cells.” *Development* 134 (7): 1259–68. <https://doi.org/10.1242/dev.02833>.
- Toyoshima, Hideo, and Tony Hunter. 1994. “P27, a Novel Inhibitor of G1 Cyclin-Cdk Protein Kinase Activity, Is Related to P21.” *Cell* 78 (1): 67–74. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90573-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90573-8).
- Truong, Lan N, and Xiaohua Wu. 2011. “Prevention of DNA Re-Replication in Eukaryotic Cells.” *Journal of Molecular Cell Biology* 3 (1): 13–22. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjq052>.

- Turlings, T C, J H Loughrin, W J Lewis, J H Tumlinson, H Terabe, H Hori, M Sasaki, et al. 2008. “Control of the Reversibility.” *Science* 321 (5892): 1095–1100. <https://doi.org/10.1126/science.1155998>.
- Vernon, Ann E., Christine Devine, and Anna Philpott. 2003. “The Cdk Inhibitor P27Xic1 Is Required for Differentiation of Primary Neurons in *Xenopus*.” *Development* 130 (1): 85–92. <https://doi.org/10.1242/dev.00193>.
- Vernon, Ann E., and Anna Philpott. 2003. “A Single Cdk Inhibitor, P27Xic1, Functions beyond Cell Cycle Regulation to Promote Muscle Differentiation in *Xenopus*.” *Development* 130 (1): 71–83. <https://doi.org/10.1242/dev.00180>.
- Vodermaier, Hartmut C. 2004. “APC/C and SCF: Controlling Each Other and the Cell Cycle.” *Current Biology* 14 (18): R787–96. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.09.020>.
- Wade Harper, J., Guy R. Adami, Nan Wei, Khandan Keyomarsi, and Stephen J. Elledge. 1993. “The P21 Cdk-Interacting Protein Cip1 Is a Potent Inhibitor of G1 Cyclin-Dependent Kinases.” *Cell* 75 (4): 805–16. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90499-G](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90499-G).
- Wakil, Abeer El, Cédric Francius, Annie Wolff, Jocelyne Pleau-Varet, and Jeannette Nardelli. 2006. “The GATA2 Transcription Factor Negatively Regulates the Proliferation of Neuronal Progenitors.” *Development* 133 (11): 2155–65. <https://doi.org/10.1242/dev.02377>.
- Weston, William A., and Alexis R. Barr. 2023. “A Cell Cycle Centric View of Tumour Dormancy.” *British Journal of Cancer* 129 (10): 1535–45. <https://doi.org/10.1038/s41416-023-02401-z>.
- Wiesenfahrt, Tobias, Janette Y. Berg, Erin Osborne Nishimura, Adam G. Robinson, Barbara Goszczynski, Jason D. Lieb, and James D. McGhee. 2015. “The Function and Regulation of the GATA Factor ELT-2 in the *C. Elegans* Endoderm.” *Development* 143 (3): 483–91. <https://doi.org/10.1242/dev.130914>.
- Williamson, E. A., I. Wolf, J. O’Kelly, S. Bose, S. Tanosaki, and H. P. Koeffler. 2006. “BRCA1 and FOXA1 Proteins Coregulate the Expression of the Cell Cycle-Dependent Kinase Inhibitor P27Kip1.” *Oncogene* 25 (9): 1391–99. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209170>.
- Wilson, Boris G., Xi Wang, Xiaohua Shen, Elizabeth S. McKenna, Madeleine E. Lemieux, Yoon Jae Cho, Edward C. Koellhoffer, Scott L. Pomeroy, Stuart H. Orkin, and Charles W.M. Roberts. 2010. “Epigenetic Antagonism between Polycomb and SWI/SNF Complexes during Oncogenic Transformation.” *Cancer Cell* 18 (4): 316–28. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.09.006>.
- Wilson, Michael I., David J. Gill, Olga Perisic, Mark T. Quinn, and Roger L. Williams. 2003. “PB1 Domain-Mediated Heterodimerization in NADPH Oxidase and Signaling Complexes of Atypical Protein Kinase C with Par6 and P62.” *Molecular Cell* 12 (1): 39–50. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00246-6](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00246-6).
- Wong, Ming Kin, Vincy Wing Sze Ho, Xiaotai Huang, Lu Yan Chan, Dongying Xie, Runsheng Li, Xiaoliang Ren, et al. 2022. “Initial Characterization of Gap Phase Introduction in Every Cell Cycle of *C. Elegans* Embryogenesis.” *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10 (October): 1–17. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.978962>.
- Wylie, Luke A., Laura J.A. Hardwick, Tatiana D. Papkovskaia, Carol J. Thiele, and Anna Philpott. 2015. “Ascl1 Phospho-Status Regulates Neuronal Differentiation in a *Xenopus*

- Developmental Model of Neuroblastoma.” *DMM Disease Models and Mechanisms* 8 (5): 429–41. <https://doi.org/10.1242/dmm.018630>.
- Xu, Jiadong, Dongliang Yu, Xuhui Dong, Xiaoling Xie, Mei Xu, Luming Guo, Liang Huang, Qi Tang, and Lin Gan. 2021. “GATA3 Maintains the Quiescent State of Cochlear Supporting Cells by Regulating P27kip1.” *Scientific Reports* 11 (1): 15779. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95427-3>.
- Yang, Hee Won, Steven D Cappell, Ariel Jaimovich, Chad Liu, Mingyu Chung, Leighton H Daigh, Lindsey R Pack, et al. 2020. “Stress-Mediated Exit to Quiescence Restricted by Increasing Persistence in CDK4 / 6 Activation.” *ELife* 2: 1–16. <https://doi.org/10.7554/eLife.44571>.
- Zeveloff, Jürgen, Patrizia Casaccia-Bonnel, Sergei A. Ezhevsky, Donna J. Osterhout, Joel M. Levine, Steve F. Dowdy, Moses V. Chao, and Andrew Koff. 2001. “P21cip1 Is Required for the Differentiation of Oligodendrocytes Independently of Cell Cycle Withdrawal.” *EMBO Reports* 2 (1): 27–34. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kve008>.
- Zhao, Xu-Yun, Siming Li, Guo-Xiao Wang, Qi Yu, and Jiandie D. Lin. 2014. “A Long Noncoding RNA Transcriptional Regulatory Circuit Drives Thermogenic Adipocyte Differentiation.” *Molecular Cell* 55 (3): 372–82. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.06.004>.
- Zhao, Zhongying, Thomas J. Boyle, Zongzhi Liu, John I. Murray, William B. Wood, and Robert H. Waterston. 2010. “A Negative Regulatory Loop between MicroRNA and Hox Gene Controls Posterior Identities in *Caenorhabditis Elegans*.” Edited by Susan E. Mango. *PLoS Genetics* 6 (9): e1001089. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001089>.
- Zhong, Zhijiu, Wen-Shuz Yeow, Chunhua Zou, Richard Wassell, Chenguang Wang, Richard G. Pestell, Judy N. Quong, and Andrew A. Quong. 2010. “Cyclin D1/Cyclin-Dependent Kinase 4 Interacts with Filamin A and Affects the Migration and Invasion Potential of Breast Cancer Cells.” *Cancer Research* 70 (5): 2105–14. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1108>.
- Zhou, Coral Y., and Rebecca Heald. 2023. “Principles of Genome Activation in the Early Embryo.” *Current Opinion in Genetics and Development* 81: 102062. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2023.102062>.
- Zhou, Yizhuo, Pedro N. Pozo, Seun Oh, Haley M. Stone, and Jeanette Gowen Cook. 2020. “Distinct and Sequential Re-Replication Barriers Ensure Precise Genome Duplication.” *PLoS Genetics* 16 (8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1008988>.
- Zhu, Jiangwen, Tetsunari Fukushige, James D. McGhee, and Joel H. Rothman. 1998. “Reprogramming of Early Embryonic Blastomeres into Endodermal Progenitors by a *Caenorhabditis Elegans* GATA Factor.” *Genes & Development* 12 (24): 3809–14. <https://doi.org/10.1101/gad.12.24.3809>.
- Zhu, Jiangwen, Russell J. Hill, Paul J. Heid, Masamitsu Fukuyama, Asako Sugimoto, James R. Priest, and Joel H. Rothman. 1997. “End-1 Encodes an Apparent GATA Factor That Specifies the Endoderm Precursor in *Caenorhabditis Elegans* Embryos.” *Genes & Development* 11 (21): 2883–96. <https://doi.org/10.1101/gad.11.21.2883>.
- Achilleos, Annita, Ann M. Wehman, and Jeremy Nance. 2010. “PAR-3 Mediates the Initial Clustering and Apical Localization of Junction and Polarity Proteins during *C. Elegans* Intestinal Epithelial Cell Polarization.” *Development* 137 (11): 1833–42.

<https://doi.org/10.1242/dev.047647>.

- Adikes, Rebecca C., Abraham Q. Kohrman, Michael A Q Martinez, Nicholas J. Palmisano, Jayson J. Smith, Taylor N. Medwig-Kinney, Mingwei Min, et al. 2020. “Visualizing the Metazoan Proliferation-Quiescence Decision in Vivo.” *ELife* 9 (December): 1–74. <https://doi.org/10.7554/eLife.63265>.
- Agnihotri, S., A. Wolf, D. Picard, C. Hawkins, and A. Guha. 2009. “GATA4 Is a Regulator of Astrocyte Cell Proliferation and Apoptosis in the Human and Murine Central Nervous System.” *Oncogene* 28 (34): 3033–46. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.159>.
- Ali, Fahad, Chris Hindley, Gary McDowell, Richard Deibler, Alison Jones, Marc Kirschner, Francois Guillemot, and Anna Philpott. 2011. “Cell Cycle-Regulated Multi-Site Phosphorylation of Neurogenin 2 Coordinates Cell Cycling with Differentiation during Neurogenesis.” *Development* 138 (19): 4267–77. <https://doi.org/10.1242/dev.067900>.
- Ando, Tomoaki, Takumi Kawabe, Hirotaka Ohara, Bernard Ducommun, Makoto Itoh, and Takashi Okamoto. 2001. “Involvement of the Interaction between P21 and Proliferating Cell Nuclear Antigen for the Maintenance of G2/M Arrest after DNA Damage.” *Journal of Biological Chemistry* 276 (46): 42971–77. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106460200>.
- Arai, Yoko, Jeremy N. Pulvers, Christiane Haffner, Britta Schilling, Ina Nüsslein, Federico Calegari, and Wieland B. Huttner. 2011. “Neural Stem and Progenitor Cells Shorten S-Phase on Commitment to Neuron Production.” *Nature Communications* 2 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms1155>.
- Asan, Alparsan, Stephan A. Raiders, and James R. Priess. 2016. “Morphogenesis of the *C. Elegans* Intestine Involves Axon Guidance Genes.” Edited by Susan E. Mango. *PLOS Genetics* 12 (4): e1005950. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005950>.
- Azzarelli, Roberta, Christopher Hurley, Magdalena K. Sznurkowska, Steffen Rulands, Laura Hardwick, Ivonne Gamper, Fahad Ali, et al. 2017. “Multi-Site Neurogenin3 Phosphorylation Controls Pancreatic Endocrine Differentiation.” *Developmental Cell* 41 (3): 274–286.e5. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.04.004>.
- Bähler, Jürg. 2005. “Cell-Cycle Control of Gene Expression in Budding and Fission Yeast.” *Annual Review of Genetics* 39: 69–94. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.39.110304.095808>.
- Bao, Zhirong, Zhongying Zhao, Thomas J. Boyle, John I. Murray, and Robert H. Waterston. 2008. “Control of Cell Cycle Timing during *C. Elegans* Embryogenesis.” *Developmental Biology* 318 (1): 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.02.054>.
- Bargonetti, Jill, and James J. Manfredi. 2002. “Multiple Roles of the Tumor Suppressor P53.” *Current Opinion in Oncology* 14 (1): 86–91. <https://doi.org/10.1097/00001622-200201000-00015>.
- Batard, Pascal, Marie-Noëlle Monier, Nicolas Fortunel, Karin Ducos, Patricia Sansilvestri-Morel, Thi-Haï Phan, Antoinette Hatzfeld, and Jacques A. Hatzfeld. 2000. “TGF-B1 Maintains Hematopoietic Immaturity by a Reversible Negative Control of Cell Cycle and Induces CD34 Antigen up-Modulation.” *Journal of Cell Science* 113 (3): 383–90. <https://doi.org/10.1242/jcs.113.3.383>.
- Bei, Yanxia, Jennifer Hogan, Laura A. Berkowitz, Martha Soto, Christian E. Rocheleau, Ka Ming Pang, John Collins, and Craig C. Mello. 2002. “SRC-1 and Wnt Signaling Act

- Together to Specify Endoderm and to Control Cleavage Orientation in Early *C. Elegans* Embryos.” *Developmental Cell* 3 (1): 113–25. [https://doi.org/10.1016/S1534-5807\(02\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S1534-5807(02)00185-5).
- Berger, Christian, Ramakrishnan Kannan, Sudharani Myneni, Simone Renner, L. S. Shashidhara, and Gerhard M Technau. 2010. “Cell Cycle Independent Role of Cyclin E during Neural Cell Fate Specification in *Drosophila* Is Mediated by Its Regulation of Prospero Function.” *Developmental Biology* 337 (2): 415–24. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.11.012>.
- Besson, Arnaud, Steven F. Dowdy, and James M. Roberts. 2008. “CDK Inhibitors: Cell Cycle Regulators and Beyond.” *Developmental Cell* 14 (2): 159–69. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.01.013>.
- Besson, Arnaud, Mark Gurian-West, Xueyan Chen, Karen S Kelly-Spratt, Christopher J Kemp, and James M Roberts. 2006. “A Pathway in Quiescent Cells That Controls P27 Kip1 Stability, Subcellular Localization, and Tumor Suppression.” *Genes & Development* 20 (1): 47–64. <https://doi.org/10.1101/gad.1384406>.
- Bidaud-Meynard, Aurélien, Flora Demouchy, Ophélie Nicolle, Anne Pacquelet, Shashi Kumar Suman, Camille N. Plancke, François B. Robin, and Grégoire Michaux. 2021. “High-Resolution Dynamic Mapping of the *C. Elegans* Intestinal Brush Border.” *Development* 148 (23): 1–8. <https://doi.org/10.1242/dev.200029>.
- Binné, Ulrich K., Marie K. Classon, Frederick A. Dick, Wenyi Wei, Michael Rape, William G. Kaelin, Anders M. Näär, and Nicholas J. Dyson. 2007. “Retinoblastoma Protein and Anaphase-Promoting Complex Physically Interact and Functionally Cooperate during Cell-Cycle Exit.” *Nature Cell Biology*. <https://doi.org/10.1038/ncb1532>.
- Bossinger, Olaf, Tetsunari Fukushige, Myriam Claeys, Gaetan Borgonie, and James D. McGhee. 2004. “The Apical Disposition of the *Caenorhabditis Elegans* Intestinal Terminal Web Is Maintained by LET-413.” *Developmental Biology* 268 (2): 448–56. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.01.003>.
- Boxem, Mike, and Sander van den Heuvel. 2001. “Lin-35 Rb and Cki-1 Cip/Kip Cooperate in Developmental Regulation of G1 Progression in *C. Elegans*.” *Development* 128 (21): 4349–59. <https://doi.org/10.1242/dev.128.21.4349>.
- Brenner, Sydney. 1973. “THE GENETICS OF BEHAVIOUR.” *British Medical Bulletin* 29 (3): 269–71. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071019>.
- Broitman-Maduro, Gina, Morris F. Maduro, and Joel H. Rothman. 2005. “The Noncanonical Binding Site of the MED-1 GATA Factor Defines Differentially Regulated Target Genes in the *C. Elegans* Mesendoderm.” *Developmental Cell* 8 (3): 427–33. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2005.01.014>.
- Busanello, Anna, Cecilia Battistelli, Mariarosaria Carbone, Cassandra Mostocotto, and Rossella Maione. 2012. “MyoD Regulates P57 Kip2 Expression by Interacting with a Distant Cis -Element and Modifying a Higher Order Chromatin Structure.” *Nucleic Acids Research* 40 (17): 8266–75. <https://doi.org/10.1093/nar/gks619>.
- Cadart, Clotilde, Sylvain Monnier, Jacopo Grilli, Pablo J Sáez, Nishit Srivastava, Rafaele Attia, Emmanuel Terriac, Buzz Baum, Marco Cosentino-Lagomarsino, and Matthieu Piel. 2018. “Size Control in Mammalian Cells Involves Modulation of Both Growth Rate and Cell Cycle Duration.” *Nature Communications* 9 (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018->

05393-0.

- Cadart, Clotilde, Larisa Venkova, Matthieu Piel, and Marco Cosentino Lagomarsino. 2022. "Volume Growth in Animal Cells Is Cell Cycle Dependent and Shows Additive Fluctuations." *ELife* 11. <https://doi.org/10.7554/eLife.70816>.
- Cadigan, K. M., and M. L. Waterman. 2012. "TCF/LEFs and Wnt Signaling in the Nucleus." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4 (11): a007906–a007906. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007906>.
- Caldon, C, and Elizabeth A Musgrove. 2010. "Distinct and Redundant Functions of Cyclin E1 and Cyclin E2 in Development and Cancer." *Cell Division* 5 (1): 2. <https://doi.org/10.1186/1747-1028-5-2>.
- Calvo, Dominica, Martin Victor, Frédérique Gay, Guangchao Sui, Margaret Po-Shan Luke, Pascale Dufourcq, Gengyun Wen, Morris Maduro, Joel Rothman, and Yang Shi. 2001. "A POP-1 Repressor Complex Restricts Inappropriate Cell Type-Specific Gene Transcription during *Caenorhabditis Elegans* Embryogenesis." *EMBO Journal* 20 (24): 7197–7208. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.24.7197>.
- Cao, Liang, Barbara Faha, Marlene Dembski, Li-Huei Tsai, Ed Harlow, and Nicholas Dyson. 1992. "Independent Binding of the Retinoblastoma Protein and p 107 to the Transcription Factor E2F."
- Carberry, Katrin, Tobias Wiesenfahrt, Reinhard Windoffer, Olaf Bossinger, and Rudolf E. Leube. 2009. "Intermediate Filaments in *Caenorhabditis Elegans*." *Cell Motility* 66 (10): 852–64. <https://doi.org/10.1002/cm.20372>.
- Chervitz, Stephen A, L Aravind, Gavin Sherlock, Catherine A Ball, Eugene V Koonin, Selina S Dwight, Midori A Harris, et al. 1998. "Comparison of the Complete Protein Sets of Worm and Yeast: Orthology and Divergence." *Science* 282 (5396): 2022–28. <https://doi.org/10.1126/science.282.5396.2022>.
- Chibazakura, Taku, Kazuhiro Kamachi, Mayu Ohara, Shoji Tane, Hirofumi Yoshikawa, and James M Roberts. 2011. "Cyclin A Promotes S-Phase Entry via Interaction with the Replication Licensing Factor Mcm7." *Molecular and Cellular Biology* 31 (2): 248–55. <https://doi.org/10.1128/mcb.00630-10>.
- Choi, Hailey, Gina Broitman-Maduro, and Morris F. Maduro. 2017. "Partially Compromised Specification Causes Stochastic Effects on Gut Development in *C. Elegans*." *Developmental Biology* 427 (1): 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.05.007>.
- Chung, Mingyu, Chad Liu, Hee Won Yang, Marielle S. Köberlin, Steven D. Cappell, and Tobias Meyer. 2019. "Transient Hysteresis in CDK4/6 Activity Underlies Passage of the Restriction Point in G1." *Molecular Cell* 76 (4): 562-573.e4. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.08.020>.
- Clucas, Caroline. 2002. "Oncogenic Potential of a *C.Elegans*cdc25 Gene Is Demonstrated by a Gain-of-Function Allele." *The EMBO Journal* 21 (4): 665–74. <https://doi.org/10.1093/emboj/21.4.665>.
- Coch, Richard, and Rudolf Leube. 2016. "Intermediate Filaments and Polarization in the Intestinal Epithelium." *Cells* 5 (3): 32. <https://doi.org/10.3390/cells5030032>.
- Cockburn, Katie, Karl Annusver, David G. Gonzalez, Smirthy Ganesan, Dennis P. May, Kailin R. Mesa, Kyogo Kawaguchi, Maria Kasper, and Valentina Greco. 2022. "Gradual

- Differentiation Uncoupled from Cell Cycle Exit Generates Heterogeneity in the Epidermal Stem Cell Layer.” *Nature Cell Biology* 24 (12): 1692–1700. <https://doi.org/10.1038/s41556-022-01021-8>.
- Coller, Hilary A, Liyun Sang, and James M Roberts. 2006. “A New Description of Cellular Quiescence.” *PLoS Biology* 4 (3): 0329–49. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040083>.
- Crncec, Adrijana, and Helfrid Hochegger. 2019. “Triggering Mitosis.” <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13635>.
- Croce, Assunta, Giuseppe Cassata, Andrea Disanza, Maria Cristina Gagliani, Carlo Tacchetti, Maria Grazia Malabarba, Marie-France Carlier, Giorgio Scita, Ralf Baumeister, and Pier Paolo Di Fiore. 2004. “A Novel Actin Barbed-End-Capping Activity in EPS-8 Regulates Apical Morphogenesis in Intestinal Cells of *Caenorhabditis Elegans*.” *Nature Cell Biology* 6 (12): 1173–79. <https://doi.org/10.1038/ncb1198>.
- Cukier, I. Howard, Yun Li, and Jonathan M. Lee. 2007. “Cyclin B1/Cdk1 Binds and Phosphorylates Filamin A and Regulates Its Ability to Cross-link Actin.” *FEBS Letters* 581 (8): 1661–72. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.03.041>.
- Davidson, Eric H. 1991. “Spatial Mechanisms of Gene Regulation in Metazoan Embryos.” *Development* 113 (1): 1–26. <https://doi.org/10.1242/dev.113.1.1>.
- Demouchy, Flora, Ophélie Nicolle, Grégoire Michaux, and Anne Pacquelet. 2024. “PAR-4/LKB1 Prevents Intestinal Hyperplasia by Restricting Endoderm Specification in *Caenorhabditis Elegans* Embryos.” *Development* 151 (1). <https://doi.org/10.1242/dev.202205>.
- Devault, A., A. M. Martinez, D. Fesquet, J. C. Labbé, N. Morin, J. P. Tassan, E. A. Nigg, J. C. Cavadore, and M. Dorée. 1995. “MAT1 (‘Menage à Trois’) a New RING Finger Protein Subunit Stabilizing Cyclin H-Cdk7 Complexes in Starfish and *Xenopus* CAK.” *The EMBO Journal* 14 (20): 5027–36. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb00185.x>.
- Dineen, Aidan, Erin Osborne Nishimura, Barbara Goszczynski, Joel H. Rothman, and James D. McGhee. 2018. “Quantitating Transcription Factor Redundancy: The Relative Roles of the ELT-2 and ELT-7 GATA Factors in the *C. Elegans* Endoderm.” *Developmental Biology* 435 (2): 150–61. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.12.023>.
- Dunphy, William G., and Akiko Kumagai. 1991. “The Cdc25 Protein Contains an Intrinsic Phosphatase Activity.” *Cell* 67 (1): 189–96. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90582-J](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90582-J).
- Eaton, Suzanne, and Fernando Martin-Belmonte. 2014. “Cargo Sorting in the Endocytic Pathway: A Key Regulator of Cell Polarity and Tissue Dynamics.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 6 (10): a016899–a016899. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016899>.
- Edgar, Lois G., and James D. McGhee. 1988. “DNA Synthesis and the Control of Embryonic Gene Expression in *C. Elegans*.” *Cell* 53 (4): 589–99. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90575-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90575-2).
- Eliazer, Susan, Jonathon M. Muncie, Josef Christensen, Xuefeng Sun, Rebecca S. D’Urso, Valerie M. Weaver, and Andrew S. Brack. 2019. “Wnt4 from the Niche Controls the Mechano-Properties and Quiescent State of Muscle Stem Cells.” *Cell Stem Cell* 25 (5): 654–665.e4. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.08.007>.



- Ertl, Iris, Montserrat Porta-De-La-Riva, Eva Gómez-Orte, Karinna Rubio-Peña, Davidaristizábal Corrales, Eric Cornes, Laura Fontrodona, et al. 2016. “Functional Interplay of Two Paralogs Encoding SWI/SNF Chromatin-Remodeling Accessory Subunits during *Caenorhabditis Elegans* Development.” *Genetics* 202 (3): 961–75. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.183533>.
- Farrell, Jeffrey A, and Patrick H. O’Farrell. 2014. “From Egg to Gastrula: How the Cell Cycle Is Remodeled during the *Drosophila* Mid-Blastula Transition.” *Annual Review of Genetics* 48: 269–94. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-111212-133531>.
- Fischer, Martin, and Gerd A. Müller. 2017. “Cell Cycle Transcription Control: DREAM/MuvB and RB-E2F Complexes.” *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 52 (6): 638–62. <https://doi.org/10.1080/10409238.2017.1360836>.
- Fiszbein, Ana, and Alberto R Kornblihtt. 2017. “Alternative Splicing Switches: Important Players in Cell Differentiation.” *BioEssays* 39 (6). <https://doi.org/10.1002/bies.201600157>.
- Fujimitsu, Kazuyuki, Margaret Grimaldi, and Hiroyuki Yamano. 2016. “Cyclin-Dependent Kinase 1 – Dependent Activation of APC/C Ubiquitin Ligase,” 1121–24.
- Fujita, Masaki, Hisako Takeshita, and Hitoshi Sawa. 2007. “Cyclin E and CDK2 Repress the Terminal Differentiation of Quiescent Cells after Asymmetric Division in *C. Elegans*.” *PLoS ONE* 2 (5): 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000407>.
- Fukushige, Tetsunari. 1998. “The GATA-Factor *elt-2* Is Essential for Formation of The *Caenorhabditis Elegans* Intestine.” *Developmental Biology* 198 (2): 286–302. <https://doi.org/10.1006/dbio.1998.8899>.
- Fukushige, Tetsunari, Michael J. Hendzel, David P. Bazett-Jones, and James D. McGhee. 1999. “Direct Visualization of the *Elt-2* Gut-Specific GATA Factor Binding to a Target Promoter inside the Living *Caenorhabditis Elegans* Embryo.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96 (21): 11883–88. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.21.11883>.
- Furden, Daniela van, Kevin Johnson, Christoph Segbert, and Olaf Bossinger. 2004. “The *C. Elegans* Ezrin-Radixin-Moesin Protein ERM-1 Is Necessary for Apical Junction Remodelling and Tubulogenesis in the Intestine.” *Developmental Biology* 272 (1): 262–76. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.05.012>.
- Giorgio, Eros Di, Enrico Gagliostro, Andrea Clocchiatti, and Claudio Brancolini. 2015. “The Control Operated by the Cell Cycle Machinery on MEF2 Stability Contributes to the Downregulation of CDKN1A and Entry into S Phase.” *Molecular and Cellular Biology* 35 (9): 1633–47. <https://doi.org/10.1128/mcb.01461-14>.
- Göbel, Verena, Peter L. Barrett, David H. Hall, and John T. Fleming. 2004. “Lumen Morphogenesis in *C. Elegans* Requires the Membrane-Cytoskeleton Linker Erm-1.” *Developmental Cell* 6 (6): 865–73. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.05.018>.
- Goldstein, Bob. 1992. “Induction of Gut in *Caenorhabditis Elegans* Embryos.” *Nature* 357 (6375): 255–57. <https://doi.org/10.1038/357255a0>.
- Gomathi, K., N. Akshaya, N. Srinaath, A. Moorthi, and N. Selvamurugan. 2020. “Regulation of Runx2 by Post-Translational Modifications in Osteoblast Differentiation.” *Life Sciences* 245 (January): 117389. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117389>.
- Gooijer, Mark C. de, Arnout van den Top, Irena Bockaj, Jos H. Beijnen, Thomas Würdinger,

- and Olaf van Tellingen. 2017. “The G2 Checkpoint—a Node-based Molecular Switch.” *FEBS Open Bio* 7 (4): 439–55. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12206>.
- Grebien, Florian, Helmut Dolznig, Hartmut Beug, and Ernst W. Mullner. 2005. “Cell Size Control: New Evidence for a General Mechanism.” *Cell Cycle* 4 (3): 418–21. <https://doi.org/10.4161/cc.4.3.1523>.
- Grimm-Günter, Eva-Maria S., Céline Revenu, Sonia Ramos, Ilse Hurbain, Neil Smyth, Evelyne Ferrary, Daniel Louvard, Sylvie Robine, and Francisco Rivero. 2009. “Plastin 1 Binds to Keratin and Is Required for Terminal Web Assembly in the Intestinal Epithelium.” Edited by Thomas D. Pollard. *Molecular Biology of the Cell* 20 (10): 2549–62. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-10-1030>.
- Hämmerle, Barbara, Edgar Ulin, Jordi Guimera, Walter Becker, François Guillemot, and Francisco J. Tejedor. 2011. “Transient Expression of Mnb/Dyrk1a Couples Cell Cycle Exit and Differentiation of Neuronal Precursors by Inducing P27KIP1 Expression and Suppressing NOTCH Signaling.” *Development* 138 (12): 2543–54. <https://doi.org/10.1242/dev.066167>.
- Hardwick, Laura J.A., and Anna Philpott. 2014. “Nervous Decision-Making: To Divide or Differentiate.” *Trends in Genetics* 30 (6): 254–61. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.04.001>.
- Heinze, Svenia D., Simon Berger, Stefanie Engleitner, Michael Daube, and Alex Hajnal. 2023. “Prolonging Somatic Cell Proliferation through Constitutive Hox Gene Expression in *C. Elegans*.” *Nature Communications* 14 (1): 6850. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42644-1>.
- Hertzog, Maud, Francesca Milanese, Larnele Hazelwood, Andrea Disanza, HongJun Liu, Emilie Perlade, Maria Grazia Malabarba, et al. 2010. “Molecular Basis for the Dual Function of Eps8 on Actin Dynamics: Bundling and Capping.” Edited by Manfred Schliwa. *PLoS Biology* 8 (6): e1000387. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000387>.
- Hirano, Yoshinori, Sosuke Yoshinaga, Ryu Takeya, Nobuo N. Suzuki, Masataka Horiuchi, Motoyuki Kohjima, Hideki Sumimoto, and Fuyuhiko Inagaki. 2005. “Structure of a Cell Polarity Regulator, a Complex between Atypical PKC and Par6 PB1 Domains.” *Journal of Biological Chemistry* 280 (10): 9653–61. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409823200>.
- Huang, Cheng-Rung, Cheng-Ju Kuo, Chih-Wen Huang, Yu-Ting Chen, Bang-Yu Liu, Chung-Ta Lee, Po-Lin Chen, et al. 2021. “Host CDK-1 and Formin Mediate Microvillar Effacement Induced by Enterohemorrhagic *Escherichia Coli*.” *Nature Communications* 12 (1): 90. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20355-1>.
- Hwang, Yung, Melinda Futran, Daniel Hidalgo, Ramona Pop, Divya Ramalingam Iyer, Ralph Scully, Nicholas Rhind, and Merav Socolovsky. 2017. “Global Increase in Replication Fork Speed during a P57KIP2-Regulated Erythroid Cell Fate Switch.” *Science Advances* 3 (5): 1–15. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700298>.
- Ishidate, Takao, Soyoung Kim, Craig C Mello, and Masaki Shirayama. 2013. “Inductive Asymmetric Cell Division.” *Worm* 2 (4): e26276. <https://doi.org/10.4161/worm.26276>.
- Kassis, Judith A, James A Kennison, and John W Tamkun. 2017. “Polycomb and Trithorax Group Genes in *Drosophila*.” *Genetics* 206 (4): 1699–1725. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.185116>.

- Katsuno, Yuko, Ayumi Suzuki, Kazuto Sugimura, Katsuzumi Okumura, Doaa H. Zineldeen, Midori Shimada, Hiroyuki Niida, Takeshi Mizuno, Fumio Hanaoka, and Makoto Nakanishi. 2009. "Cyclin A-Cdk1 Regulates the Origin Firing Program in Mammalian Cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (9): 3184–89. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809350106>.
- Kia, Sima Kheradmand, Marcin M. Gorski, Stavros Giannakopoulos, and C. Peter Verrijzer. 2008. "SWI/SNF Mediates Polycomb Eviction and Epigenetic Reprogramming of the INK4b-ARF-INK4a Locus ." *Molecular and Cellular Biology* 28 (10): 3457–64. <https://doi.org/10.1128/mcb.02019-07>.
- Kim, Soyung, Takao Ishidate, Rita Sharma, Martha C Soto, Darryl Conte, Craig C Mello, and Masaki Shirayama. 2013. "Wnt and CDK-1 Regulate Cortical Release of WRM-1/  $\beta$ -Catenin to Control Cell Division Orientation in Early *Caenorhabditis Elegans* Embryos." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (10). <https://doi.org/10.1073/pnas.1300769110>.
- Kitzmann, Magali, Marie Vandromme, Valerie Schaeffer, Gilles Carnac, Jean-Claude Labbé, Ned Lamb, and Anne Fernandez. 1999. "Cdk1- and Cdk2-Mediated Phosphorylation of MyoD Ser200 in Growing C2 Myoblasts: Role in Modulating MyoD Half-Life and Myogenic Activity." *Molecular and Cellular Biology* 19 (4): 3167–76. <https://doi.org/10.1128/mcb.19.4.3167>.
- Kostić, Ivana, Shaolin Li, and Richard Roy. 2003. "Cki-1 Links Cell Division and Cell Fate Acquisition in the *C. Elegans* Somatic Gonad." *Developmental Biology* 263 (2): 242–52. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.07.001>.
- Kostić, Ivana, and Richard Roy. 2002. "Organ-Specific Cell Division Abnormalities Caused by Mutation in a General Cell Cycle Regulator in *C. Elegans*." *Development* 129 (9): 2155–65. <https://doi.org/10.1242/dev.129.9.2155>.
- Krüger, Angela V., Rob Jelier, Oleh Dzyubachyk, Timo Zimmerman, Erik Meijering, and Ben Lehner. 2015. "Comprehensive Single Cell-Resolution Analysis of the Role of Chromatin Regulators in Early *C. Elegans* Embryogenesis." *Developmental Biology* 398 (2): 153–62. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.10.014>.
- Kumagai, Akiko, and William G. Dunphy. 1991. "The Cdc25 Protein Controls Tyrosine Dephosphorylation of the Cdc2 Protein in a Cell-Free System." *Cell* 64 (5): 903–14. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90315-P](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90315-P).
- Kuwahara, Yasumichi, Aubri Charboneau, Erik S. Knudsen, and Bernard E. Weissman. 2010. "Reexpression of HSNF5 in Malignant Rhabdoid Tumor Cell Lines Causes Cell Cycle Arrest through a P21CIP1/WAF1-Dependent Mechanism." *Cancer Research* 70 (5): 1854–65. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1922>.
- Kuwahara, Yasumichi, Darmood Wei, Joel Durand, and Bernard E. Weissman. 2013. "SNF5 Reexpression in Malignant Rhabdoid Tumors Regulates Transcription of Target Genes by Recruitment of SWI/SNF Complexes and RNAPII to the Transcription Start Site of Their Promoters." *Molecular Cancer Research* 11 (3): 251–60. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-12-0390>.
- Labbé, J.C., A.M. Martinez, D. Fesquet, J.P. Capony, J.M. Darbon, J. Derancourt, A. Devault, N. Morin, J.C. Cavadore, and M. Dorée. 1994. "P40MO15 Associates with a P36 Subunit and Requires Both Nuclear Translocation and Thr176 Phosphorylation to Generate Cdk-

- Activating Kinase Activity in *Xenopus* Oocytes.” *The EMBO Journal* 13 (21): 5155–64. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06845.x>.
- Lacomme, Marine, Laurence Liaubet, Fabienne Pituello, and Sophie Bel-Vialar. 2012. “NEUROG2 Drives Cell Cycle Exit of Neuronal Precursors by Specifically Repressing a Subset of Cyclins Acting at the G 1 and S Phases of the Cell Cycle .” *Molecular and Cellular Biology* 32 (13): 2596–2607. <https://doi.org/10.1128/mcb.06745-11>.
- Laugesen, Anne, and Kristian Helin. 2014. “Chromatin Repressive Complexes in Stem Cells, Development, and Cancer.” *Cell Stem Cell* 14 (6): 735–51. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.05.006>.
- Lazaro, Jean Bernard, Peter J. Bailey, and Andrew B. Lassar. 2002. “Cyclin D-Cdk4 Activity Modulates the Subnuclear Localization and Interaction of MEF2 with SRC-Family Coactivators during Skeletal Muscle Differentiation.” *Genes and Development* 16 (14): 1792–1805. <https://doi.org/10.1101/gad.U-9988R>.
- Lee, Jen-Yi, Daniel J. Marston, Timothy Walston, Jeff Hardin, Ari Halberstadt, and Bob Goldstein. 2006. “Wnt/Frizzled Signaling Controls C. Elegans Gastrulation by Activating Actomyosin Contractility.” *Current Biology* 16 (20): 1986–97. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.08.090>.
- Lee, Miler T, Ashley R Bonneau, and Antonio J Giraldez. 2014. “Zygotic Genome Activation during the Maternal-to-Zygotic Transition.” *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013027>.
- Lee, Yong-Uk, Miseol Son, Jiyoung Kim, Yhong-Hee Shim, and Ichiro Kawasaki. 2016. “CDC-25.2, a C. Elegans Ortholog of Cdc25 , Is Essential for the Progression of Intestinal Divisions.” *Cell Cycle* 15 (5): 654–66. <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1146839>.
- Lessard, Julie, Jiang I. Wu, Jeffrey A. Ranish, Mimi Wan, Monte M. Winslow, Brett T. Staahl, Hai Wu, Ruedi Aebersold, Isabella A. Graef, and Gerald R. Crabtree. 2007. “An Essential Switch in Subunit Composition of a Chromatin Remodeling Complex during Neural Development.” *Neuron* 55 (2): 201–15. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.06.019>.
- Leung, Ben, Greg J. Hermann, and James R. Priess. 1999. “Organogenesis of the Caenorhabditis Elegans Intestine.” *Developmental Biology* 216 (1): 114–34. <https://doi.org/10.1006/dbio.1999.9471>.
- Levenberg, Shulamit, Anat Yarden, Zvi Kam, and Benjamin Geiger. 1999. “P27 Is Involved in N-Cadherin-Mediated Contact Inhibition of Cell Growth and S-Phase Entry.” *Oncogene* 18 (4): 869–76. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202396>.
- Li, Jin, Heon Kim, Donato G. Aceto, Jeffrey Hung, Shinya Aono, and Kenneth J. Kemphues. 2010. “Binding to PKC-3, but Not to PAR-3 or to a Conventional PDZ Domain Ligand, Is Required for PAR-6 Function in C. Elegans.” *Developmental Biology* 340 (1): 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.01.023>.
- Lickert, Heiko, Jun K. Takeuchi, Ingo von Both, Johnathon R. Walls, Fionnuala McAuliffe, S. Lee Adamson, R. Mark Henkelman, Jeffrey L. Wrana, Janet Rossant, and Benoit G. Bruneau. 2004. “Baf60c Is Essential for Function of BAF Chromatin Remodelling Complexes in Heart Development.” *Nature* 432 (7013): 107–12. <https://doi.org/10.1038/nature03071>.
- Lim, Daniel A, Yin Cheng Huang, Tomek Swigut, Anika L Mirick, Jose Manuel Garcia-

- Verdugo, Joanna Wysocka, Patricia Ernst, and Arturo Alvarez-Buylla. 2009. “Chromatin Remodelling Factor Mll1 Is Essential for Neurogenesis from Postnatal Neural Stem Cells.” *Nature* 458 (7237): 529–33. <https://doi.org/10.1038/nature07726>.
- Liu, Jun, and John Isaac Murray. 2023. “Mechanisms of Lineage Specification in *Caenorhabditis Elegans*.” Edited by G Seydoux. *GENETICS* 225 (4): 1–47. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad174>.
- Liu, Kai, Rui Lu, Qi Zhao, Jiaying Du, Yuwei Li, Mingying Zheng, and Shiwu Zhang. 2020. “Association and Clinicopathologic Significance of P38MAPK-ERK-JNK-CDC25C with Polyploid Giant Cancer Cell Formation.” *Medical Oncology* 37 (1). <https://doi.org/10.1007/s12032-019-1330-9>.
- Liu, Kai, Mingying Zheng, Rui Lu, Jiaying Du, Qi Zhao, Zugui Li, Yuwei Li, and Shiwu Zhang. 2020. “The Role of CDC25C in Cell Cycle Regulation and Clinical Cancer Therapy: A Systematic Review.” *Cancer Cell International* 20 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01304-w>.
- Lobjois, Valérie, Sophie Bel-Vialar, Françoise Trousse, and Fabienne Pituello. 2008. “Forcing Neural Progenitor Cells to Cycle Is Insufficient to Alter Cell-Fate Decision and Timing of Neuronal Differentiation in the Spinal Cord.” *Neural Development* 3 (1). <https://doi.org/10.1186/1749-8104-3-4>.
- Lobjois, Valérie, Bertrand Benazeraf, Nicolas Bertrand, François Medevielle, and Fabienne Pituello. 2004. “Specific Regulation of Cyclins D1 and D2 by FGF and Shh Signaling Coordinates Cell Cycle Progression, Patterning, and Differentiation during Early Steps of Spinal Cord Development.” *Developmental Biology* 273 (2): 195–209. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.05.031>.
- Lukaszewicza, Agnès I., and David J. Anderson. 2011. “Cyclin D1 Promotes Neurogenesis in the Developing Spinal Cord in a Cell Cycle-Independent Manner.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (28): 11632–37. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106230108>.
- Maduro, Morris F., Gina Broitman-Maduro, Isabella Mengarelli, and Joel H. Rothman. 2007. “Maternal Deployment of the Embryonic SKN-1 → MED-1,2 Cell Specification Pathway in *C. Elegans*.” *Developmental Biology* 301 (2): 590–601. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.08.029>.
- Maduro, Morris F., Russell J. Hill, Paul J. Heid, Erin D. Newman-Smith, Jiangwen Zhu, James R. Priess, and Joel H. Rothman. 2005. “Genetic Redundancy in Endoderm Specification within the Genus *Caenorhabditis*.” *Developmental Biology* 284 (2): 509–22. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.05.016>.
- Maduro, Morris F., Rueyling Lin, and Joel H. Rothman. 2002. “Dynamics of a Developmental Switch: Recursive Intracellular and Intranuclear Redistribution of *Caenorhabditis Elegans* POP-1 Parallels Wnt-Inhibited Transcriptional Repression.” *Developmental Biology* 248 (1): 128–42. <https://doi.org/10.1006/dbio.2002.0721>.
- Maduro, Morris F., Marc D. Meneghini, Bruce Bowerman, Gina Broitman-Maduro, and Joel H. Rothman. 2001. “Restriction of Mesendoderm to a Single Blastomere by the Combined Action of SKN-1 and a GSK-3 $\beta$  Homolog Is Mediated by MED-1 and -2 in *C. Elegans*.” *Molecular Cell* 7 (3): 475–85. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(01\)00195-2](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(01)00195-2).
- Mar, Jordan, Kalpana Makhijani, Denise Flaherty, and Krishna Moorthi Bhat. 2022. “Nuclear

- Prospero Allows One-Division Potential to Neural Precursors and Post-Mitotic Status to Neurons via Opposite Regulation of Cyclin E.” Edited by Claude Desplan. *PLOS Genetics* 18 (8): e1010339. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010339>.
- Martin, Xabier de, Reza Sodaei, and Gabriel Santpere. 2021. “Mechanisms of Binding Specificity among Bhlh Transcription Factors.” *International Journal of Molecular Sciences* 22 (17). <https://doi.org/10.3390/ijms22179150>.
- Martínez-Limón, Adrián, Manel Joaquin, María Caballero, Francesc Posas, and Eulàlia de Nadal. 2020. “The P38 Pathway: From Biology to Cancer Therapy.” *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms21061913>.
- Matthews, Helen K., Cosetta Bertoli, and Robertus A.M. de Bruin. 2022. “Cell Cycle Control in Cancer.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 23 (1): 74–88. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>.
- Maurange, Cédric, Louise Cheng, and Alex P. Gould. 2008. “Temporal Transcription Factors and Their Targets Schedule the End of Neural Proliferation in *Drosophila*.” *Cell* 133 (5): 891–902. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.034>.
- Mcdowell, Gary S, Christopher J Hindley, Guy Lippens, Isabelle Landrieu, and Anna Philpott. 2014. “Phosphorylation in Intrinsically Disordered Regions Regulates the Activity of Neurogenin2.” <https://doi.org/10.1186/s12858-014-0024-3>.
- McGhee, James D., Tetsunari Fukushige, Michael W. Krause, Stephanie E. Minnema, Barbara Goszczynski, Jeb Gaudet, Yuji Kohara, et al. 2009. “ELT-2 Is the Predominant Transcription Factor Controlling Differentiation and Function of the *C. Elegans* Intestine, from Embryo to Adult.” *Developmental Biology* 327 (2): 551–65. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.11.034>.
- McGhee, James D., Monica C. Sleumer, Mikhail Bilenky, Kim Wong, Sheldon J. McKay, Barbara Goszczynski, Helen Tian, et al. 2007. “The ELT-2 GATA-Factor and the Global Regulation of Transcription in the *C. Elegans* Intestine.” *Developmental Biology* 302 (2): 627–45. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.10.024>.
- Mendenhall, Alexander, Matthew M Crane, Scott Leiser, George Sutphin, Patricia M Tedesco, Matt Kaeberlein, Thomas E Johnson, and Roger Brent. 2017. “Environmental Canalization of Life Span and Gene Expression in *Caenorhabditis Elegans*.” *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences* 72 (8): 1033–37. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx017>.
- Mir, Mustafa, Zhuo Wang, Zhen Shen, Michael Bednarz, Rashid Bashir, Ido Golding, Supriya G Prasanth, and Gabriel Popescu. 2011. “Optical Measurement of Cycle-Dependent Cell Growth.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (32): 13124–29. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100506108>.
- Morgan, David O. 1995. “Principles of CDK Regulation.” *Nature* 374 (6518): 131–34. <https://doi.org/10.1038/374131a0>.
- Müller, Jürg, Craig M. Hart, Nicole J. Francis, Marcus L. Vargas, Aditya Sengupta, Brigitte Wild, Ellen L. Miller, Michael B. O’Connor, Robert E. Kingston, and Jeffrey A. Simon. 2002. “Histone Methyltransferase Activity of a *Drosophila* Polycomb Group Repressor Complex.” *Cell* 111 (2): 197–208. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00976-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00976-5).
- Murray, John Isaac, Elicia Preston, Jeremy P Crawford, Jonathan D Rumley, Prativa Amom,

- Breana D Anderson, Priya Sivaramakrishnan, et al. 2022. “The Anterior Hox Gene Ceh-13 and *Elt-1/GATA* Activate the Posterior Hox Genes *Nob-1* and *Php-3* to Specify Posterior Lineages in the *C. Elegans* Embryo.” Edited by Jeremy Nance. *PLoS Genetics* 18 (5): e1010187. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010187>.
- Nacht, Ana Silvina, Andy Pohl, Roser Zaurin, Daniel Soronellas, Javier Quilez, Priyanka Sharma, Roni H Wright, Miguel Beato, and Guillermo P Vicent. 2016. “Hormone-Induced Repression of Genes Requires BRG1-Mediated H1.2 Deposition at Target Promoters.” *The EMBO Journal* 35: 1822–43. <https://doi.org/10.15252/embj.201593260>.
- Nair, Gautham, Travis Walton, John Isaac Murray, and Arjun Raj. 2013. “Gene Transcription Is Coordinated with, but Not Dependent on, Cell Divisions during *C. Elegans* Embryonic Fate Specification.” *Development* 140 (16): 3385–94. <https://doi.org/10.1242/dev.098012>.
- Nakamura, Kuniaki, Soyoung Kim, Takao Ishidate, Yanxia Bei, Kaming Pang, Masaki Shirayama, Chris Trzepacz, Daniel R Brownell, and Craig C Mello. 2005. “Wnt Signaling Drives WRM-1/ $\beta$ -Catenin Asymmetries in Early *C. Elegans* Embryos.” *Genes & Development* 19 (15): 1749–54. <https://doi.org/10.1101/gad.1323705>.
- Nakayama, Keiichi I., and Keiko Nakayama. 2005. “Regulation of the Cell Cycle by SCF-Type Ubiquitin Ligases.” *Seminars in Cell and Developmental Biology* 16 (3): 323–33. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2005.02.010>.
- Naturale, Victor F., Melissa A. Pickett, and Jessica L. Feldman. 2023. “Persistent Cell Contacts Enable E-Cadherin/HMR-1- and PAR-3-Based Symmetry Breaking within a Developing *C. Elegans* Epithelium.” *Developmental Cell* 58 (19): 1830-1846.e12. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2023.07.008>.
- Nguyen, Laurent, Arnaud Besson, Julian Ik-tsen Heng, Carol Schuurmans, Lydia Teboul, Carlos Parras, Anna Philpott, James M Roberts, and François Guillemot. 2006. “Differentiation and Migration in the Cerebral Cortex.” *Genes & Development*, 1511–24. <https://doi.org/10.1101/gad.377106.Cyclin-dependent>.
- Nielsen, Soren J., Robert Schneider, Uta Maria Bauer, Andrew J. Bannister, Ashby Morrison, Donal O’Carroll, Ron Firestein, et al. 2001. “Rb Targets Histone H3 Methylation and HP1 to Promoters.” *Nature* 412 (6846): 561–65. <https://doi.org/10.1038/35087620>.
- Ortega, Sagrario, Marcos Malumbres, and Mariano Barbacid. 2002. “Cyclin D-Dependent Kinases, INK4 Inhibitors and Cancer.” *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* 1602 (1): 73–87. [https://doi.org/10.1016/S0304-419X\(02\)00037-9](https://doi.org/10.1016/S0304-419X(02)00037-9).
- Owraghi, Melissa, Gina Broitman-Maduro, Thomas Luu, Heather Roberson, and Morris F. Maduro. 2010. “Roles of the Wnt Effector POP-1/TCF in the *C. Elegans* Endomesoderm Specification Gene Network.” *Developmental Biology* 340 (2): 209–21. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.09.042>.
- Pálffy, Máté, Shai R. Joseph, and Nadine L. Vastenhouw. 2017. “The Timing of Zygotic Genome Activation.” *Current Opinion in Genetics and Development* 43: 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.12.001>.
- Papetti, Michael, Sandeep N. Wontakal, Tomas Stopka, and Arthur I. Skoultschi. 2010. “GATA-1 Directly Regulates P21 Gene Expression during Erythroid Differentiation.” *Cell Cycle*. <https://doi.org/10.4161/cc.9.10.11602>.
- Park, Morgan, and Michael W. Krause. 1999. “Regulation of Postembryonic G1 Cell Cycle

- Progression in *Caenorhabditis Elegans* by a Cyclin D/CDK-like Complex.” *Development* 126 (21): 4849–60. <https://doi.org/10.1242/dev.126.21.4849>.
- Parker, Laura L, and Helen Piwnica-Worms. 1992. “Inactivation of the P34cdc2-Cyclin B Complex by the Human WEE1 Tyrosine Kinase.” *Science* 257 (5078): 1955–57. <https://doi.org/10.1126/science.1384126>.
- Pateras, Ioannis S, Kalliopi Apostolopoulou, Katerina Niforou, Athanassios Kotsinas, and Vassilis G Gorgoulis. 2009. “P57 KIP2 : ‘Kip’Ing the Cell under Control.” *Mol Cancer Res* 7 (12): 1902–21. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-09-0317>.
- Pop, Ramona, Jeffrey R. Shearstone, Qichang Shen, Ying Liu, Kelly Hallstrom, Miroslav Koulis, Joost Gribnau, and Merav Socolovsky. 2010. “A Key Commitment Step in Erythropoiesis Is Synchronized with the Cell Cycle Clock through Mutual Inhibition between PU.1 and S-Phase Progression.” *PLoS Biology* 8 (9). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000484>.
- Puri, Pier Lorenzo, and Mark Mercola. 2012. “BAF60 A, B, and Cs of Muscle Determination and Renewal.” *Genes & Development* 26 (24): 2673–83. <https://doi.org/10.1101/gad.207415.112>.
- Ren, Shengjun, and Barrett J. Rollins. 2004. “Cyclin C/Cdk3 Promotes Rb-Dependent G0 Exit.” *Cell* 117 (2): 239–51. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00300-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00300-9).
- Reynaud, Emmanuel G., Marie Pierre Leibovitch, Lionel A.J. Tintignac, Karine Pospel, Martine Guillier, and Serge A. Leibovitch. 2000. “Stabilization of MyoD by Direct Binding to P57Kip2.” *Journal of Biological Chemistry* 275 (25): 18767–76. <https://doi.org/10.1074/jbc.M907412199>.
- Reynaud, Emmanuel G., Karine Pospel, Martine Guillier, Marie Pierre Leibovitch, and Serge A. Leibovitch. 1999. “P57 Kip2 Stabilizes the MyoD Protein by Inhibiting Cyclin E-Cdk2 Kinase Activity in Growing Myoblasts.” *Molecular and Cellular Biology* 19 (11): 7621–29. <https://doi.org/10.1128/mcb.19.11.7621>.
- Robertson, Scott M, Jessica Medina, and Rueyling Lin. 2014. “Uncoupling Different Characteristics of the *C. Elegans* E Lineage from Differentiation of Intestinal Markers.” *PLoS ONE* 9 (9): 106309. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106309>.
- Rocheleau, Christian E, William D Downs, Rueyling Lin, Claudia Wittmann, Yanxia Bei, Yoon-Hee Cha, Mussa Ali, James R Priess, and Craig C Mello. 1997. “Wnt Signaling and an APC-Related Gene Specify Endoderm in Early *C. Elegans* Embryos.” *Cell* 90 (4): 707–16. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80531-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80531-0).
- Roiz, Daniel, Juan Miguel Escobar-Restrepo, Philipp Leu, and Alex Hajnal. 2016. “The *C. Elegans* Hox Gene *Lin-39* Controls Cell Cycle Progression during Vulval Development.” *Developmental Biology* 418 (1): 124–34. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.07.018>.
- Roy, Sarah H., Joseph E. Clayton, Jenna Holmen, Eleanor Beltz, and R. Mako Saito. 2011. “Control of Cdc14 Activity Coordinates Cell Cycle and Development in *Caenorhabditis Elegans*.” *Mechanisms of Development* 128 (7–10): 317–26. <https://doi.org/10.1016/j.mod.2011.06.001>.
- Ruijtenberg, Suzan, and Sander van den Heuvel. 2016. “Coordinating Cell Proliferation and Differentiation: Antagonism between Cell Cycle Regulators and Cell Type-Specific Gene Expression.” *Cell Cycle* 15 (2): 196–212.



<https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1120925>.

- Ruijtenberg, Suzan, and Sander Van Den Heuvel. 2015. "G1/S Inhibitors and the SWI/SNF Complex Control Cell-Cycle Exit during Muscle Differentiation." *Cell* 162 (2): 300–313. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.06.013>.
- Saito, R Mako, Audrey Perreault, Bethan Peach, John S Satterlee, and Sander van den Heuvel. 2004. "The CDC-14 Phosphatase Controls Developmental Cell-Cycle Arrest in *C. Elegans*." *Nature Cell Biology* 6 (8): 777–83. <https://doi.org/10.1038/ncb1154>.
- Sampath, Srinath C, Srihari C Sampath, Andrew T V Ho, Stéphane Y Corbel, Joshua D Millstone, John Lamb, John Walker, Bernd Kinzel, Christian Schmedt, and Helen M Blau. 2018. "Induction of Muscle Stem Cell Quiescence by the Secreted Niche Factor Oncostatin M." *Nature Communications* 9 (1): 1531. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03876-8>.
- Sanidas, Ioannis, Robert Morris, Katerina A. Fella, Purva H. Rumde, Myriam Boukhali, Eric C. Tai, David T. Ting, Michael S. Lawrence, Wilhelm Haas, and Nicholas J. Dyson. 2019. "A Code of Mono-Phosphorylation Modulates the Function of RB." *Molecular Cell* 73 (5): 985-1000.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.01.004>.
- Schuettengruber, Bernd, Daniel Chourrout, Michel Vervoort, Benjamin Leblanc, and Giacomo Cavalli. 2007. "Genome Regulation by Polycomb and Trithorax Proteins." *Cell* 128 (4): 735–45. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.009>.
- Schuettengruber, Bernd, Anne Marie Martinez, Nicola Iovino, and Giacomo Cavalli. 2011. "Trithorax Group Proteins: Switching Genes on and Keeping Them Active." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 12 (12): 799–814. <https://doi.org/10.1038/nrm3230>.
- Shetty, Premnath, Miao-Chia Lo, Scott M. Robertson, and Rueyling Lin. 2005. "C. Elegans TCF Protein, POP-1, Converts from Repressor to Activator as a Result of Wnt-Induced Lowering of Nuclear Levels." *Developmental Biology* 285 (2): 584–92. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.07.008>.
- Shin, Tae Ho, Jun Yasuda, Christian E. Rocheleau, Rueyling Lin, Martha Soto, Yanxia Bei, Roger J. Davis, and Craig C. Mello. 1999. "MOM-4, a MAP Kinase Kinase Kinase-Related Protein, Activates WRM-1/LIT-1 Kinase to Transduce Anterior/Posterior Polarity Signals in *C. Elegans*." *Molecular Cell* 4 (2): 275–80. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80375-5](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80375-5).
- Siatecka, Mirosława, Felix Lohmann, Sujin Bao, and James J Bieker. 2010. "EKLF Directly Activates the P21 WAF1/CIP1 Gene by Proximal Promoter and Novel Intronic Regulatory Regions during Erythroid Differentiation." *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY* 30 (11): 2811–22. <https://doi.org/10.1128/MCB.01016-09>.
- Slifer, Eleanor H. 1942. "A Mutant Stock of *Drosophila* with Extra Sex-combs." *Journal of Experimental Zoology* 90 (1): 31–40. <https://doi.org/10.1002/jez.1400900103>.
- Sommermann, Erica M., Keith R. Strohmaier, Morris F. Maduro, and Joel H. Rothman. 2010. "Endoderm Development in *Caenorhabditis Elegans*: The Synergistic Action of ELT-2 and -7 Mediates the Specification→differentiation Transition." *Developmental Biology* 347 (1): 154–66. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.08.020>.
- Song, An, Qi Wang, Mark G. Goebel, and Maureen A. Harrington. 1998. "Phosphorylation of Nuclear MyoD Is Required for Its Rapid Degradation." *Molecular and Cellular Biology*

- 18 (9): 4994–99. <https://doi.org/10.1128/mcb.18.9.4994>.
- Sulston, J.E., and H.R. Horvitz. 1977. “Post-Embryonic Cell Lineages of the Nematode, *Caenorhabditis Elegans*.” *Developmental Biology* 56 (1): 110–56. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(77\)90158-0](https://doi.org/10.1016/0012-1606(77)90158-0).
- Sulston, J.E., E. Schierenberg, J.G. White, and J.N. Thomson. 1983. “The Embryonic Cell Lineage of the Nematode *Caenorhabditis Elegans*.” *Developmental Biology* 100 (1): 64–119. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(83\)90201-4](https://doi.org/10.1016/0012-1606(83)90201-4).
- Sun, Dan, and Laura Buttitta. 2017. “States of G0 and the Proliferation-Quiescence Decision in Cells, Tissues and during Development.” *International Journal of Developmental Biology* 61 (6–7): 357–66. <https://doi.org/10.1387/ijdb.160343LB>.
- Tadros, Wael, and Howard D Lipshitz. 2009. “The Maternal-to-Zygotic Transition: A Play in Two Acts.” *Development* 136 (18): 3033–42. <https://doi.org/10.1242/dev.033183>.
- Tavernier, N., Y. Thomas, S. Vigneron, P. Maisonneuve, S. Orlicky, P. Mader, S. G. Regmi, et al. 2021. “Bora Phosphorylation Substitutes in Trans for T-Loop Phosphorylation in Aurora A to Promote Mitotic Entry.” *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21922-w>.
- The *C. elegans* Sequencing Consortium. 1998. “Genome Sequence of the Nematode *C. Elegans*: A Platform for Investigating Biology.” *Science* 282 (5396): 2012–18. <https://doi.org/10.1126/science.282.5396.2012>.
- Thorpe, Christopher J., Ann Schlesinger, J. Clayton Carter, and Bruce Bowerman. 1997. “Wnt Signaling Polarizes an Early *C. Elegans* Blastomere to Distinguish Endoderm from Mesoderm.” *Cell* 90 (4): 695–705. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80530-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80530-9).
- Tintignac, Lionel A., Marie Pierre Leibovitch, Magali Kitzmann, Anne Fernandez, Bernard Ducommun, Laurent Meijer, and Serge A. Leibovitch. 2000. “Cyclin E–Cdk2 Phosphorylation Promotes Late G1-Phase Degradation of MyoD in Muscle Cells.” *Experimental Cell Research* 259 (1): 300–307. <https://doi.org/10.1006/excr.2000.4973>.
- Tomic, Goran, Edward Morrissey, Sarah Kozar, Shani Ben-Moshe, Alice Hoyle, Roberta Azzarelli, Richard Kemp, et al. 2018. “Phospho-Regulation of ATOH1 Is Required for Plasticity of Secretory Progenitors and Tissue Regeneration.” *Cell Stem Cell* 23 (3): 436–443.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.07.002>.
- Totong, Ronald, Annita Achilleos, and Jeremy Nance. 2007. “PAR-6 Is Required for Junction Formation but Not Apicobasal Polarization in *C. Elegans* Embryonic Epithelial Cells.” *Development* 134 (7): 1259–68. <https://doi.org/10.1242/dev.02833>.
- Toyoshima, Hideo, and Tony Hunter. 1994. “P27, a Novel Inhibitor of G1 Cyclin-Cdk Protein Kinase Activity, Is Related to P21.” *Cell* 78 (1): 67–74. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90573-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90573-8).
- Truong, Lan N, and Xiaohua Wu. 2011. “Prevention of DNA Re-Replication in Eukaryotic Cells.” *Journal of Molecular Cell Biology* 3 (1): 13–22. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjq052>.
- Turlings, T C, J H Loughrin, W J Lewis, J H Tumlinson, H Terabe, H Hori, M Sasaki, et al. 2008. “Control of the Reversibility.” *Science* 321 (5892): 1095–1100. <https://doi.org/10.1126/science.1155998>.

- Vernon, Ann E., Christine Devine, and Anna Philpott. 2003. "The Cdk Inhibitor P27Xic1 Is Required for Differentiation of Primary Neurons in *Xenopus*." *Development* 130 (1): 85–92. <https://doi.org/10.1242/dev.00193>.
- Vernon, Ann E., and Anna Philpott. 2003. "A Single Cdk Inhibitor, P27Xic1, Functions beyond Cell Cycle Regulation to Promote Muscle Differentiation in *Xenopus*." *Development* 130 (1): 71–83. <https://doi.org/10.1242/dev.00180>.
- Vodermaier, Hartmut C. 2004. "APC/C and SCF: Controlling Each Other and the Cell Cycle." *Current Biology* 14 (18): R787–96. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.09.020>.
- Wade Harper, J., Guy R. Adami, Nan Wei, Khandan Keyomarsi, and Stephen J. Elledge. 1993. "The P21 Cdk-Interacting Protein Cip1 Is a Potent Inhibitor of G1 Cyclin-Dependent Kinases." *Cell* 75 (4): 805–16. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90499-G](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90499-G).
- Wakil, Abeer El, Cédric Francius, Annie Wolff, Jocelyne Pleau-Varet, and Jeannette Nardelli. 2006. "The GATA2 Transcription Factor Negatively Regulates the Proliferation of Neuronal Progenitors." *Development* 133 (11): 2155–65. <https://doi.org/10.1242/dev.02377>.
- Weston, William A., and Alexis R. Barr. 2023. "A Cell Cycle Centric View of Tumour Dormancy." *British Journal of Cancer* 129 (10): 1535–45. <https://doi.org/10.1038/s41416-023-02401-z>.
- Wiesenfahrt, Tobias, Janette Y. Berg, Erin Osborne Nishimura, Adam G. Robinson, Barbara Goszczynski, Jason D. Lieb, and James D. McGhee. 2015. "The Function and Regulation of the GATA Factor ELT-2 in the *C. Elegans* Endoderm." *Development* 143 (3): 483–91. <https://doi.org/10.1242/dev.130914>.
- Williamson, E. A., I. Wolf, J. O’Kelly, S. Bose, S. Tanosaki, and H. P. Koeffler. 2006. "BRCA1 and FOXA1 Proteins Coregulate the Expression of the Cell Cycle-Dependent Kinase Inhibitor P27Kip1." *Oncogene* 25 (9): 1391–99. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209170>.
- Wilson, Boris G., Xi Wang, Xiaohua Shen, Elizabeth S. McKenna, Madeleine E. Lemieux, Yoon Jae Cho, Edward C. Koellhoffer, Scott L. Pomeroy, Stuart H. Orkin, and Charles W.M. Roberts. 2010. "Epigenetic Antagonism between Polycomb and SWI/SNF Complexes during Oncogenic Transformation." *Cancer Cell* 18 (4): 316–28. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.09.006>.
- Wilson, Michael I., David J. Gill, Olga Perisic, Mark T. Quinn, and Roger L. Williams. 2003. "PB1 Domain-Mediated Heterodimerization in NADPH Oxidase and Signaling Complexes of Atypical Protein Kinase C with Par6 and P62." *Molecular Cell* 12 (1): 39–50. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00246-6](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00246-6).
- Wong, Ming Kin, Vincy Wing Sze Ho, Xiaotai Huang, Lu Yan Chan, Dongying Xie, Runsheng Li, Xiaoliang Ren, et al. 2022. "Initial Characterization of Gap Phase Introduction in Every Cell Cycle of *C. Elegans* Embryogenesis." *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10 (October): 1–17. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.978962>.
- Wylie, Luke A., Laura J.A. Hardwick, Tatiana D. Papkovskaia, Carol J. Thiele, and Anna Philpott. 2015. "Ascl1 Phospho-Status Regulates Neuronal Differentiation in a *Xenopus* Developmental Model of Neuroblastoma." *DMM Disease Models and Mechanisms* 8 (5): 429–41. <https://doi.org/10.1242/dmm.018630>.
- Xu, Jiadong, Dongliang Yu, Xuhui Dong, Xiaoling Xie, Mei Xu, Luming Guo, Liang Huang,

- Qi Tang, and Lin Gan. 2021. “GATA3 Maintains the Quiescent State of Cochlear Supporting Cells by Regulating P27kip1.” *Scientific Reports* 11 (1): 15779. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95427-3>.
- Yang, Hee Won, Steven D Cappell, Ariel Jaimovich, Chad Liu, Mingyu Chung, Leighton H Daigh, Lindsey R Pack, et al. 2020. “Stress-Mediated Exit to Quiescence Restricted by Increasing Persistence in CDK4 / 6 Activation.” *ELife* 2: 1–16. <https://doi.org/10.7554/eLife.44571>.
- Zezula, Jürgen, Patrizia Casaccia-Bonnel, Sergei A. Ezhevsky, Donna J. Osterhout, Joel M. Levine, Steve F. Dowdy, Moses V. Chao, and Andrew Koff. 2001. “P21cip1 Is Required for the Differentiation of Oligodendrocytes Independently of Cell Cycle Withdrawal.” *EMBO Reports* 2 (1): 27–34. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kve008>.
- Zhao, Xu-Yun, Siming Li, Guo-Xiao Wang, Qi Yu, and Jiandie D. Lin. 2014. “A Long Noncoding RNA Transcriptional Regulatory Circuit Drives Thermogenic Adipocyte Differentiation.” *Molecular Cell* 55 (3): 372–82. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.06.004>.
- Zhao, Zhongying, Thomas J. Boyle, Zongzhi Liu, John I. Murray, William B. Wood, and Robert H. Waterston. 2010. “A Negative Regulatory Loop between MicroRNA and Hox Gene Controls Posterior Identities in *Caenorhabditis Elegans*.” Edited by Susan E. Mango. *PLoS Genetics* 6 (9): e1001089. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001089>.
- Zhong, Zhijiu, Wen-Shuz Yeow, Chunhua Zou, Richard Wassell, Chenguang Wang, Richard G. Pestell, Judy N. Quong, and Andrew A. Quong. 2010. “Cyclin D1/Cyclin-Dependent Kinase 4 Interacts with Filamin A and Affects the Migration and Invasion Potential of Breast Cancer Cells.” *Cancer Research* 70 (5): 2105–14. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1108>.
- Zhou, Coral Y., and Rebecca Heald. 2023. “Principles of Genome Activation in the Early Embryo.” *Current Opinion in Genetics and Development* 81: 102062. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2023.102062>.
- Zhou, Yizhuo, Pedro N. Pozo, Seeun Oh, Haley M. Stone, and Jeanette Gowen Cook. 2020. “Distinct and Sequential Re-Replication Barriers Ensure Precise Genome Duplication.” *PLoS Genetics* 16 (8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1008988>.
- Zhu, Jiangwen, Tetsunari Fukushige, James D. McGhee, and Joel H. Rothman. 1998. “Reprogramming of Early Embryonic Blastomeres into Endodermal Progenitors by a *Caenorhabditis Elegans* GATA Factor.” *Genes & Development* 12 (24): 3809–14. <https://doi.org/10.1101/gad.12.24.3809>.
- Zhu, Jiangwen, Russell J. Hill, Paul J. Heid, Masamitsu Fukuyama, Asako Sugimoto, James R. Priess, and Joel H. Rothman. 1997. “End-1 Encodes an Apparent GATA Factor That Specifies the Endoderm Precursor in *Caenorhabditis Elegans* Embryos.” *Genes & Development* 11 (21): 2883–96. <https://doi.org/10.1101/gad.11.21.2883>.

Bibliographie supplémentaire : (Articles non-disponibles ou livres non pris en charge par Mendeley)

Waddington, C. H. *Organisers and Genes* (Univ. Press, 1940).

*in Early Development*. 2nd ed. Cambridge [England] ; Cambridge University Press, 1991

Gilbert SF. 2000. The Developmental Mechanics of Cell Specification. *in Developmental Biology*. 6th edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9968/>

---

---

**Titre :** Étude des relations entre la prolifération et la différenciation cellulaire au cours de l'organogenèse intestinale chez *C. elegans*

**Mots clés :** Embryogenèse, Cycle cellulaire, Différenciation

**Résumé :** La prolifération et la différenciation cellulaires sont des processus essentiels qui sous-tendent le développement des organismes multicellulaires. L'arrêt de la prolifération cellulaire précède généralement la différenciation terminale, suggérant que ces deux processus pourraient être coordonnés. Nous avons utilisé le développement très stéréotypé de l'intestin de *C. elegans* pour déterminer si les contrôles des programmes de prolifération et de différenciation sont systématiquement couplés. Nous montrons qu'un retard dans l'arrêt du cycle cellulaire entraîne un retard dans le recrutement de certains composants seulement de la bordure en brosse. Réciproquement, nous constatons que l'arrêt

du cycle cellulaire repose sur les facteurs de différenciation ELT-2 et ELT-7 uniquement dans les cellules intestinales postérieures. L'apparition de divisions surnuméraires en l'absence d'ELT-2 et d'ELT-7 est associée à des changements dans le profil d'expression des régulateurs du cycle cellulaire CKI-1 et cycline B1. Notre travail démontre donc l'existence d'interactions réciproques entre la prolifération et la différenciation cellulaire. Il montre cependant aussi que ces deux processus ne sont que partiellement couplés, suggérant l'existence de mécanismes supplémentaires assurant leur contrôle temporel.

---

**Title :** Deciphering the relationships between cell proliferation and differentiation during intestinal organogenesis in *C. elegans*

**Keywords :** Embryogenesis, Cell cycle, Differentiation

**Abstract :** Cell proliferation and differentiation are essential processes underlying multicellular organism development. Cell proliferation arrest usually precedes terminal differentiation, suggesting that these two processes may be coordinated. Here we took advantage of the very stereotyped development of the *C. elegans* intestine to address whether the control of the proliferation and differentiation programs are systematically coupled. We show that retarding cell cycle arrest leads to a delay in the recruitment of some, but not all, brush border components. Reciprocally,

we find that cell cycle arrest relies on the differentiation factors ELT-2 and ELT-7 only in posterior intestinal cells. The occurrence of supernumerary divisions in the absence of ELT-2 and ELT-7 is associated with changes in the expression pattern of the cell cycle regulators CKI-1 and cyclin B1. Our work thus demonstrates the existence of reciprocal interactions between cell proliferation and cell differentiation. It nevertheless also shows that these two processes are only partially coupled, suggesting the existence of additional mechanisms ensuring their temporal control.