



HAL
open science

Étude de la formation de l'enveloppe atypique d'intercinèse dans les ovocytes de *C. elegans*

Layla El Mossadeq

► **To cite this version:**

Layla El Mossadeq. Étude de la formation de l'enveloppe atypique d'intercinèse dans les ovocytes de *C. elegans*. Reproduction sexuée. Université Paris Cité, 2022. Français. NNT : 2022UNIP5173 . tel-04828303

HAL Id: tel-04828303

<https://theses.hal.science/tel-04828303v1>

Submitted on 10 Dec 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.



Université Paris Cité

École doctorale Bio Sorbonne Paris Cité (ED BioSPC, ED562)

Institut Jacques Monod (UMR7592)

Équipe Division Cellulaire et Reproduction

Étude de la formation de l'enveloppe atypique d'intercinèse dans les ovocytes de *C. elegans*

Layla EL MOSSADEQ

Thèse de doctorat

Spécialité : Reproduction

Dirigée par le Dr. Julien DUMONT

Présentée et soutenue publiquement à Paris le 8 décembre 2022

devant le jury composé de :

Dr. Marie-Émilie TERRET (DR), Collège de France, Paris – Rapportrice

Dr. Vincent GALY (DR), Sorbonne Université, Paris – Rapporteur

Dr. Katja WASSMANN (DR), Institut Jacques Monod, Paris – Examinatrice

Dr. Julien DUMONT (DR), Institut Jacques Monod, Paris – Directeur de thèse

Résumé

La division cellulaire est un processus essentiel pour le développement, l'homéostasie et la reproduction des organismes. Chez les eucaryotes, la sortie d'interphase et l'entrée en division cellulaire sont marquées par la rupture de l'enveloppe nucléaire et la condensation des chromosomes. Puis, en fin de division, la cellule entre à nouveau en interphase et l'enveloppe nucléaire se reforme autour des chromosomes en cours de décondensation. La reproduction des organismes nécessite la production de gamètes haploïdes (ovocytes et spermatozoïdes) au cours d'une division spécialisée appelée méiose. La méiose correspond à deux étapes de ségrégation des chromosomes séparées par un court intervalle, nommé intercinèse. Dans les ovocytes en intercinèse, les chromosomes restent condensés. Il a donc été proposé que l'intercinèse ne correspond pas à une réelle interphase et que, par conséquent, l'enveloppe nucléaire ne se reforme pas à ce stade. Cependant, mon travail de thèse dans les ovocytes de *Caenorhabditis elegans* m'a conduit à identifier une double membrane entourant la surface des chromosomes condensés en intercinèse.

En combinant des approches de vidéo-microscopie et de microscopie électronique, j'ai étudié la reformation de cette double membrane en intercinèse dans les ovocytes de *C. elegans*. J'ai ainsi pu démontrer que l'enveloppe d'intercinèse est une structure transitoire présente entre l'anaphase I et l'entrée en méiose II. L'enveloppe d'intercinèse est composée de la lamine LMN-1 et de protéines de la membrane interne LEM-2, SUN-1 et EMR-1. Cependant, elle est dépourvue des protéines de la membrane externe ZYG-12 et SP-12, ce qui est cohérent avec l'absence de continuité entre l'enveloppe d'intercinèse et le réticulum endoplasmique. Par ailleurs, et de manière surprenante, bien que cette enveloppe soit dépourvue de pores nucléaires, certaines nucléoporines y sont présentes. Par l'analyse de la fonction des composants de l'enveloppe d'intercinèse, j'ai d'ailleurs pu démontrer que la formation de celle-ci dépend de la nucléoporine MEL-28^{ELYS}, qui recrute des membranes sur les chromosomes en cours de ségrégation, et du « facteur barrière à l'auto-intégration » BAF-1^{BAF} assurant l'intégrité de l'enveloppe.

Enfin, mes résultats démontrent que l'enveloppe d'intercinèse n'est jamais totalement scellée, et ne dépend donc pas du complexe ESCRTIII normalement nécessaire à la fermeture de l'enveloppe nucléaire en interphase. Finalement, l'étude fonctionnelle de l'enveloppe d'intercinèse suggère qu'elle participe à la ségrégation correcte des chromosomes dans l'ovocyte de *C. elegans*. En effet, j'ai pu démontrer qu'en son absence, les chromosomes se séparent plus rapidement, et sur une plus grande distance, que dans les ovocytes contrôles. Dans l'ensemble, mon travail de thèse démontre que l'enveloppe d'intercinèse est une nouvelle organelle qui entoure les chromosomes condensés et participe à leur ségrégation correcte dans l'ovocyte de *C. elegans*.

Mots-clés : Méiose, intercinèse, enveloppe nucléaire.

Abstract

Cell division is a biological process essential for the development, homeostasis and reproduction of organisms. In eukaryotes, the exit from interphase and the entry into cell division are marked by the nuclear envelope breakdown and the condensation of chromosomes. Then, at the end of the division, the cell reenters interphase and the nuclear envelope reforms to surround the decondensing chromosomes. The reproduction of organisms requires the production of haploid gametes (oocytes and spermatozoa) generated during meiosis. Meiosis corresponds to two successive rounds of chromosome segregation separated by a short phase, called interkinesis. In interkinesis oocytes, the chromosomes remain condensed. It has therefore been proposed that interkinesis does not correspond to a real interphase and that the nuclear envelope does not reform at this stage. However, my thesis work in *Caenorhabditis elegans* oocytes led me to identify a double membrane surrounding the surface of the condensed chromosomes in interkinesis.

By combining light and electron microscopy, I studied the reformation of this double membrane during interkinesis in *C. elegans* oocytes. I have demonstrated that the interkinesis envelope is a transient structure present between anaphase I and meiosis II entry. The interkinesis envelope is composed of the lamina LMN-1 and the inner nuclear membrane proteins LEM-2, SUN-1 and EMR-1. It however lacks the outer membrane proteins ZYG-12 and SP-12, which is consistent with the discontinuity between the interkinesis envelope and the endoplasmic reticulum. Surprisingly, although nuclear pores are absent, some nucleoporins localized at the interkinesis envelope. By analyzing the function of the interkinesis envelope components, I have shown that the formation of this envelope depends on the nucleoporin MEL-28^{ELYS}, which recruits membranes on the segregating chromosomes, and on the "barrier to autointegration factor" BAF-1^{BAF}, which ensures interkinesis envelope integrity. Finally, my results have demonstrated that the interkinesis envelope is never completely sealed, and therefore does not depend on the ESCRTIII complex, normally required for the sealing of interphase nuclear envelopes.

Finally, functional study of the interkinesis envelope suggested that it participates in the correct segregation of chromosomes in the *C. elegans* oocyte. Indeed, I have demonstrated that in its absence, chromosomes segregate more rapidly, and over a greater distance, than in control oocytes.

Overall, my work demonstrates that the interkinesis envelope is a novel organelle that covers the segregating chromosomes, and participates to their correct segregation in the *C. elegans* oocyte.

Keywords: Meiosis, interkinesis, nuclear envelope.

Title: Mechanisms of the atypical interkinesis envelope formation in *C. elegans* oocytes

ملخص

يعد الانقسام الخلوي أساسي لتطور الكائنات الحية وتوازنها الخلوي وتكاثرها. عند الكائنات حقيقيات النوى ، يتم تمييز الخروج من طور البيئي وبداية الانقسام الخلوي من خلال تلاشي الغلاف النووي وتكثيف الصبغيات. ثم ، في نهاية الانقسام ، يتشكل الغلاف النووي من جديد حول الصبغيات المتفككة. يتطلب تكاثر الكائنات الحية إنتاج الأمشاج (البويضات والحيوانات المنوية) خلال انقسام متخصص يسمى الانقسام الاختزالي . يتوافق الانقسام الاختزالي مع مرحلتين من انقسام الصبغيات مفصولة بفواصل زمني قصير ، يسمى الطور بين الانقسامين. خلال هذا الطور ، تظل صبغيات البويضات مكثفة. لذلك تم اقتراح أن الطور بين الانقسامين لا يتوافق مع الطور البيئي الحقيقي ، وبالتالي ، فإن الغلاف النووي لا يتم تشكيله في هذه المرحلة. ومع ذلك ، فإنني من خلال البحث في أطروحتي ، تمكنت من تحديد وجود غشاء مزدوج يحيط بسطح الصبغيات المكثفة خلال الطور بين الانقسامين في بويضات دودة الأرض *Caenorhabditis elegans*

باستعمال الفحص المجهر الضوئي المجهر الإلكتروني ، قمت بدراسة إعادة تشكيل هذا الغشاء المزدوج خلال الطور بين الانقسامين في بويضات *C. elegans*. وهكذا تمكنت من إثبات أن غلاف الطور بين الانقسامين عبارة عن مكون خلوي عابر يتكون خلال الانقسام المنصف ويتلاشى قبل الدخول في الانقسام التعادلي. يتألف غلاف الطور بين الانقسامين من الصفيحة النووية المكونة من الشعيرات المتوسطة LMN-1 وبروتينات الغشاء الداخلي LEM-2 و SUN-1 و EMR-1 . ولكنه يفتقر إلى بروتينات الغشاء الخارجي ZYG-12 و SP-12 ، وهو ما يتوافق مع ما لاحظته بالمجهر الإلكتروني حيث أنه ليس له استمرارية الشبكة الإندوبلازمية.

علاوة على ذلك ، على الرغم من أن هذا الغلاف خالي من المسام النووية ، إلا أن بعض البروتينات التابعة له موجودة هناك. من خلال تحليل وظيفة مكونات غلاف الطور بين الانقسامين ، تمكنت أيضًا من إثبات أن تكوينه يعتمد على البروتين MEL-28^{ELYS} ، التي تقوم بإحاطة الأغشية حول الصبغيات، وعلى BAF-1^{BAF} الذي يضمن سلامة الطرف. أخيرًا ، توضح نتائجي أن الغلاف الحركي لا يتم إغلاقه تمامًا ، وبالتالي لا يعتمد على مجمع ESCRTIII الضروري عادةً لإغلاق الغلاف النووي. أخيرًا ، تشير الدراسة الوظيفية لغلاف الطور البيئي إلى أنه يشارك في الانقسام السليم للصبغيات في بويضة *C. elegans* حيث ، تمكنت من إثبات أنه في غياب سلامة الطرف ، تنفصل الصبغيات بشكل أسرع وعلى مسافة أكبر.

بشكل عام ، يوضح بحث أطروحتي أن غلاف الطور بين الانقسامين عبارة عن عضوية جديدة تحيط بالصبغيات المكثفة وتشارك في انقسامها السليم في بويضة *C. elegans*

الكلمات المفتاحية: الانقسام الاختزالي ، الحركية الداخلية ، الغلاف النووي

العنوان: دراسة تشكيل غلاف الطور بين الانقسامين في بويضات *C. elegans*

Remerciements

Je remercie vivement les Drs **Marie-Émilie Terret, Katja Wassmann et Vincent Galy**, membres de mon jury de thèse, d'avoir accepté de rapporter et examiner mon travail.

Je remercie les Drs **Valérie Doye et Vincent Galy** d'avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse. Les trois rencontres que nous avons eues m'ont énormément aidée et ont été décisives pour l'avancée de mon projet de thèse.

Je remercie le ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation d'avoir financé ma bourse doctorale et la Ligue Nationale Contre le Cancer d'avoir financé ma quatrième année de thèse.



Avant de commencer ma thèse, un conseil se répétait systématiquement : bien choisir sa future équipe de travail. Et sur ce point, je peux vous dire que j'ai remporté le gros lot. Et à ce jour je reste persuadée que je n'aurais pas pu trouver mieux. Cette équipe a été pendant ma thèse ma deuxième famille et par moments (grâce au covid) ma seule vie sociale. Une équipe de gentil·le·s, gourmand·e·s, bienveillant·e·s plein·e·s d'humour, qui n'ont pas été avares de conseils avec moi, autant sur le côté scientifique que sur le côté personnel et avec qui j'ai partagé cette grande aventure. Ces remerciements risquent d'être longs, car je souhaite prendre le temps de remercier chaque personne de la team Dumont en commençant par les constantes, celles qui sont arrivées au cours de ma thèse, puis celles qui sont parties avant la fin !

Tout d'abord, merci à **Julien** sans qui je n'aurais pas été dans ce laboratoire à travailler sur ce super projet. Merci de m'avoir donné la chance de faire partie de ton équipe et d'avoir été présent et disponible tout au long de ma thèse. Merci pour ton écoute, ta patience ainsi que toutes les choses que tu m'as apprises et d'avoir accepté toutes les formations que je demandais.

Gilliane, merci d'avoir été, en plus de JD, la constante durant ces années et d'avoir toujours trouvé du temps pour moi. Merci d'avoir été aussi rigoureuse et minutieuse et de ne pas avoir été avare de ton temps même pour les demandes les plus chronophages.

Beaurélien, le kéké du labo et mon allié des soirs, week-ends et jours fériés au labo. J'ai adoré les moments au labo aux rythmes de Goldman, Brassens, Brel ou Renaud. Merci pour ta présence, ton amitié et ta bienveillance

Merci à **Mélanie** (alias Naniiii) d'avoir ri à toutes mes blagues pourries. Cela a été un plaisir de partager avec toi ma passion pour la pistache et « faites entrer l'accusé ». Merci pour toutes les pauses goûters, pour râler ou imaginer des trucs insensés, et surtout merci pour ton amitié et ta présence.

Aurélien et Mélanie, mes deux bretons préférés, merci pour tous les moments entre doctorants. Merci pour votre soutien et vos encouragements et bravo à vous pour m'avoir supportée. Je suis très ravie d'avoir partagé avec vous le voyage à Vienne. Je vous souhaite de très bonnes fins de thèse.

Merci à **Nicolas** le b**mer d'avoir supporté que je sois sur (ou plutôt derrière) son dos, d'avoir approuvé mes blagues de papa et d'avoir toujours eu les mots d'encouragements que j'avais besoin d'entendre. Merci pour toutes ces fois où tu m'as donné le sourire et merci aussi d'avoir été patient toutes les fois où je cherchais à t'embêter.

Merci à **Laura**, mon amie et ma sœur (de maladies), pour ta présence, ton empathie et ta générosité. Merci d'avoir toujours été à l'écoute de mes détresses scientifiques et personnelles.

Merci à Laura et Nicolas, mes compagnons de bureau pour tous les « waw » que vous avez lancé à chaque fois que vous regardiez mon écran pour m'encourager et surtout, merci d'avoir répondu présents toutes les fois où je vous demandais de l'aide.

Merci à **Taji** de nous avoir facilité la vie en mettant au point la database, pour le seeding des boîtes et de prendre soin de nos vers.

Merci à **Alison** pour toutes les anecdotes et surtout d'avoir rejoint dès le premier jour la team des gens censés qui se lèguent contre Nicolas.

Merci à **Hélène**, ma co-usagère galérienne des lignes de train abandonnées au sud de Paris, d'avoir partagé avec moi plein de plans gourmands (et médicaux) à Paris.

Merci à **LaPitayu** de m'avoir accueillie, nourrie, et de m'avoir fait découvrir plein de tips (en retard) et merci aussi pour toutes les conversations improbables des fins d'après-midi.

Ben, merci pour ton accueil depuis le premier jour, ton écoute, ta bienveillance et d'avoir été si attentionné avec moi.

Nelly tu m'as régaler avec tes jeux de mots et tous nos fous rires durant le déjeuner. Merci pour votre soutien Eva leBébéSuperMinion et toi et de m'avoir accompagnée même après ton départ.

Chaimae et **Jade**, merci d'avoir été de superbes apprenties chercheuses, j'ai beaucoup appris à vos côtés et vous encadrer a été un grand plaisir pour moi.

Merci à **Frances** d'avoir été patiente en m'apprenant à injecter les vers, et surtout merci d'avoir été aussi présente et pleine de conseils même après ton départ du labo.

Merci à **Kim** de m'avoir aidée à m'intégrer au labo, de m'avoir mise en confiance avec les vers et d'avoir partagé plein d'astuces avec moi. Et merci aussi pour les données de tomo !

Shreya, Paloma, Peter et Fabien, merci pour tous les moments partagés. Cela a été un plaisir de vous rencontrer !



Je remercie la plateforme de microscopie électronique de l'institut Jacques Monod sans qui ce travail n'aurait pas été aussi « beau » ! Merci **Jean-Marc** pour ton aide précieuse à toutes les étapes allant de la fixation à la segmentation. Merci à **Catherine** pour ton accueil sur la plateforme. Et enfin merci à **Rémi** pour m'avoir tout appris. Merci pour ton accompagnement, ta disponibilité (soirs et week-ends inclus), ton optimisme et ta patience.

Je remercie **Mireille Guillard** et **Nadine Luquet**, nos merveilleuses gestionnaires, d'avoir été accueillantes, patientes et tout le temps à l'écoute.

Merci à **Norry** et **Jo** du magasin pour leur bonne humeur et leur accueil. Cela a toujours été un plaisir de faire une pause et venir faire mon shopping !

Merci à **Patricia, Soilihi, Christie, Romain, Théo, Vincent, Espérance** et **Clarisse** ainsi que toutes les personnes du service technique et du service informatique d'avoir facilité notre quotidien et d'avoir veillé à ce que l'on ne manque de rien.

Je remercie toute l'équipe des **Pintard** pour leur aide, leurs lignées et leurs conseils autour des vers. Merci aux worm girls, **Eva** et **Sylvia** pour tous les moments passés entre doctorantes. Et merci spécialement à **Sylvia** de m'avoir sortie de ma bulle. Ta présence a été très importante pour moi tout au long de cette aventure. Cela a été un grand plaisir d'avoir à quelques pas de moi une sœur de projet et de lignées (et de galère de préfecture).

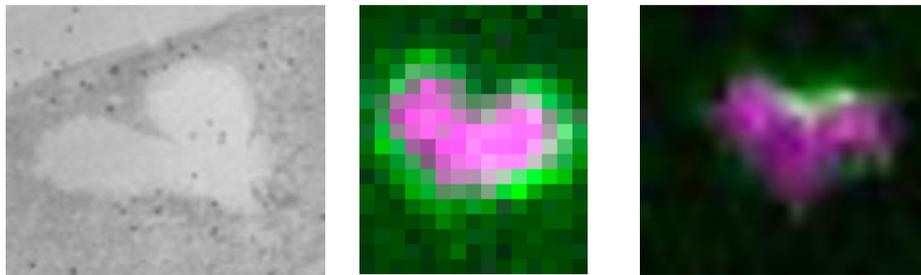
Je remercie les Drs **Angela Taddei** et **Antoine Hocher**, mes encadrants de master 1, d'avoir toujours été de bons conseils avec moi. Merci spécialement à Antoine pour ta patience, ta confiance et de m'avoir beaucoup appris sur les télomères de levures.

Merci également aux Drs **Hélène Hagège, Nicolas Nègre** et **Frédéric Bantignies** de m'avoir encadrée lors de mes premiers stages et de m'avoir permis de faire mes premiers pas dans le « monde de la recherche ».



Il y a 20 ans, je disséquais clandestinement des insectes que je prenais au piège. Je n'aurai jamais imaginé que cela pouvait être un vrai métier ! Et me voilà aujourd'hui qui sais dépecer des larves de drosophiles et tailler en pièces des vers de terre.

En arrivant en France, il y a 10 ans, j'ai dû apprendre à vivre et à maintenir à distance mes relations familiales et amicales.



A toutes les personnes qui m'ont soutenue ces coeurs que j'ai croisés durant ma thèse. (Et non, ce ne sont pas des coeurs de vers). Celui de droite vient d'une observation par microscopie électronique d'un embryon de ver. Celui du milieu d'une observation par vidéomicroscopie d'un embryon vivant. Celui du milieu d'une observation par immunofluorescence d'un embryon fixé (mort. Oups !). En vert une protéine de l'enveloppe nucléaire "LEM-2" et en magenta l'ADN.

Si je me trouve aujourd'hui à écrire ces mots, c'est grâce en premier lieu à mes parents **Abdelhamid** et **Malika** qui m'ont accompagnée depuis toute petite dans la confiance et le respect. Bien qu'ils m'aient abandonnée à l'âge de 17 ans à 1854kms de ma maison d'enfance, Abdelhamid et Malika ont toujours été présents. Merci infiniment pour toute votre aide et de m'avoir transmis le meilleur de chacun·e de vous (sauf en ce qui concerne les antécédents médicaux). En plus de mes parents, j'ai la chance aussi d'être entourée de deux grandes familles très présentes malgré la distance. Merci à la team **El Mossadeq** et à la team **Ghabbar** pour votre soutien, pour vos messages réguliers d'encouragements, de sympathie et de m'avoir depuis toujours accompagnée et conseillée.

Merci à mon frère **Rachid** de m'avoir accompagnée et nourrie durant mon séjour parisien. Et merci à mon papa montpelliérain **Mhamed** de m'avoir toujours chouchoutée, mais aussi, aidée à garder le focus sur le plus important. Merci à **Rayhane** ma binôme de cours, de TD, de TP, de BU, et maintenant de thèse pour ta précieuse amitié. Merci à ma grande sœur et amie **Salwa** d'avoir été un exemple pour moi. Merci à **Said H, Salma, Rarik, Muriel, Nora** et **Eva** d'avoir été des ami·e·s bienveillant·e·s.

Merci à Mme **Khadija Amraoui**, ma prof de SVT au lycée d'avoir inspiré mon parcours. Vous m'avez émerveillée durant vos cours et sans vous je n'aurais pas fait d'études de biologie. Merci de continuer à veiller sur moi 11 ans plus tard. Et un grand merci à Mme **Fatiha Cherribi**, ma prof de traduction au lycée (qui a corrigé mon résumé en arabe), mon amie, la maman de Omar et ma camarade, pour tous tes messages quotidiens, ta bienveillance et d'être un modèle de force et de résistance pour moi.

Avant de commencer ma thèse, et malgré la distance, j'ai toujours été soutenue par deux amis très proches, qui aujourd'hui ne peuvent pas en suivre l'évolution et qui me manquent terriblement ...

Omar Radi qui encourt injustement, depuis le 29 juillet 2020, une peine de prison de 6 ans ferme au Maroc. Tu as toujours été un modèle d'intégrité pour moi et un soutien infaillible depuis mes années de lycée. J'espère que tu seras bientôt libre parmi nous... #FreeOmarRadi Et **Lotfi Chengli** qui nous a quitté le 20 novembre 2020. Merci mon cher pour tous tes aller-retours Grenoble-Montpellier ou Grenoble-Paris pour veiller sur moi et prendre soin de moi... Tout est allé très vite et je n'ai pas eu le temps de te dire au revoir ni combien je t'admire... La blessure ne sepanse pas et mon amitié et ma douleur ne cessent de grandir... Et malgré ton départ, tu m'as accompagnée tout au long de cette aventure.

Et enfin, merci à mon allié du quotidien, **Said**, celui qui a su me soutenir à distance et à proximité, qui a égayé mes journées, qui a supporté mes pétages de câbles et qui m'a réconforté quand (presque) plus rien n'allait. Merci pour ton amour, ta bienveillance et ta présence. *Èammars ma tuḡa trajiy ad afey ijjen bnadem yesbaḡ am cek.*

والدود نوعان

Table des matières

RESUME	3
ABSTRACT	7
ملخص.....	11
REMERCIEMENTS	13
TABLE DES MATIERES	21
INDEX DES FIGURES	25
Figures d'introduction	25
Figures de résultats.....	26
Figures de discussion	26
LISTE DES ABREVIATIONS	29
INTRODUCTION	31
I. LE CYCLE CELLULAIRE	31
1. La mitose.....	31
2. La méiose	35
2. 1. La méiose mâle et la méiose femelle	37
II. LES ACTEURS DE LA DIVISION CELLULAIRE	41
1. Les microtubules.....	41
2. Les kinétochores	43
2. 1. Le kinétochore interne	43
2. 2. Le kinétochore externe	45
2. 3. Autres protéines assurant la liaison avec les microtubules.....	45
III. <i>C. ELEGANS</i> COMME ORGANISME MODELE.....	49
IV. LA MEIOSE CHEZ <i>C. ELEGANS</i>	51
1. Formation d'un réservoir de spermatozoïdes	51
2. Formation d'un ovocyte fonctionnel	51
3. Les spécificités de la division méiotique	55
4. Formation des fuseaux méiotiques acentrosomaux	57
5. Assemblage et organisation du fuseau méiotique chez <i>C. elegans</i>	57
6. Spécificité des kinétochores dans l'ovocyte de <i>C. elegans</i>	61
V. L'ENVELOPPE NUCLEAIRE	63
1. Composition de l'enveloppe nucléaire	63

1. 1.	La lamine périphérique	65
1. 1. 1.	La lamine	65
1. 1. 2.	BAF	67
1. 1. 3.	Les protéines à domaine LEM.....	69
1. 1. 4.	Le complexe LINC.....	71
1. 1. 5.	Le récepteur de la lamine B	73
1. 2.	Le pore nucléaire.....	75
2.	Dynamique de l'enveloppe nucléaire	93
2. 1.	Rupture de l'enveloppe nucléaire.....	95
2. 2.	Reformation de l'enveloppe nucléaire	97
3.	Mécanismes de fermeture de l'enveloppe nucléaire.....	99
MATERIEL ET METHODES		103
RESULTATS.....		117
	CONTEXTE DE LA RECHERCHE.....	117
	RESULTATS	119
1.	Une double membrane recouvre les chromosomes en intercinèse	119
2.	L'enveloppe d'intercinèse n'est pas scellée	121
3.	La proximité de la membrane plasmique et les microtubules contrôlent les asymétries spatiale et temporelle, respectivement, de formation de l'enveloppe d'intercinèse	123
4.	L'enveloppe d'intercinèse comporte des protéines de la lamine périphérique, mais est dépourvue de protéines de la MN externe	125
5.	L'enveloppe d'intercinèse comporte des protéines des pores nucléaires.....	127
6.	BAF-1 est importante pour l'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse.....	131
7.	MEL-28 est essentielle à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse via la régulation des microtubules et des kinétochores	135
8.	MEL-28 est essentielle à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse via le recrutement de nucléoporines.....	139
9.	L'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse est essentielle à la ségrégation des chromosomes	141
	LEGENDES DE FIGURES :	143
DISCUSSION		151
	UNE ENVELOPPE RECOUVRANT LES CHROMOSOMES SE FORME EN INTERCINESE DANS L'OVOCYTE.....	151
	LA REGULATION DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE PAR LES MICROTUBULES	153
	LA PROXIMITE DU CORTEX OVOCYTAIRE INHIBE LA FORMATION DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE.....	155
	ROLE DE MEL-28 ^{ELYS} DANS L'ASSEMBLAGE DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE.....	157
	Désassemblage des kinétochores et des microtubules des pôles du fuseau et formation de l'enveloppe d'intercinèse.....	157
	Recrutement des nucléoporines en aval de MEL-28 ^{ELYS} et formation de l'enveloppe d'intercinèse	159

Contribution des nucléoporines dans la formation de l'enveloppe d'intercinèse	161
L'ENVELOPPE D'INTERCINESE EST DEPOURVUE DE PORES NUCLEAIRES	163
ROLE DE BAF-1 DANS L'INTEGRITE DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE.....	165
LE RECRUTEMENT DE LEM-2 PAR BAF-1	167
L'ORIGINE DES MEMBRANES DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE	169
ROLE DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE DANS LA SEGREGATION DES CHROMOSOMES	171
ROLE POTENTIEL DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE DANS LE MAINTIEN DES CHROMOSOMES LORS DE L'ARRET SECONDAIRE EN ANAPHASE I	173
CONSERVATION INTER-ESPECES DE L'ENVELOPPE D'INTERCINESE	173
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	177

Index des figures

Figures d'introduction

Figure I. 1 Schéma du cycle cellulaire.....	30
Figure I. 2 : Schéma de la mitose dans le cycle cellulaire.....	32
Figure I. 3 : Schéma de la méiose I	34
Figure I. 4 : Schéma de la méiose II	36
Figure I. 5 Schéma de la méiose femelle	38
Figure I. 6 Schéma représentant la structure et la dynamique des microtubules.....	40
Figure I. 7 : (A) Schémas représentant un chromosome monocentrique et un chromosome holocentrique et les différentes couches des kinétochores. (B) Schéma représentant CENP-A et les protéines du CCAN.....	42
Figure I. 8 : Schéma représentant les protéines du réseau KMN et les protéines associées aux kinétochores.....	44
Figure I. 9 : Images représentant les différents stades du cycle de vie de <i>C. elegans</i> . (Corsi et al., 2015).....	48
Figure I. 10 Schéma représentant la spermatogénèse dans la gonade de <i>C. elegans</i> . Inspiré de Wang et al., 2022.....	50
Figure I. 11 Schéma représentant l'ovogénèse dans la gonade de <i>C. elegans</i> . Inspiré de Hillers et al., 2016.....	52
Figure I. 12 Schéma de l'assemblage et de l'organisation du fuseau méiotique chez <i>C. elegans</i>	58
Figure I. 13 : (A) Schéma de l'organisation des kinétochores dans l'ovocyte de <i>C. elegans</i> . Adapté de Macaisne et al., 2022. (B) Image montrant la localisation de la protéine KNL-1 en forme de tasse dans l'ovocyte de <i>C. elegans</i> (Dumont et al., 2010). (C) Schéma de l'organisation des kinétochores chez <i>C. elegans</i>	60
Figure I. 14 Schéma représentant l'organisation de l'enveloppe nucléaire chez <i>C. elegans</i> ...	62
Figure I. 15 Schéma représentant l'organisation et la structure de la lamine.....	64

Figure I. 16 Schéma détaillant les localisations et les domaines structuraux des protéines à domaine LEM humaines (Barton et al., 2015).....	68
Figure I. 17 : Schéma des différents complexes LINC chez <i>C. elegans</i>	72
Figure I. 18 : Schéma simplifié représentant l'organisation du pore nucléaire chez <i>C. elegans</i> . Inspiré de Cohen-Fix et Askjaer, 2017	74
Figure I. 19 : Schéma représentant l'organisation des pores nucléaires	76
Figure I. 20 : (a) coupes de microscopie électronique par tomographie de pores à différentes étapes d'assemblage. (b) Schéma des étapes d'assemblage et de maturation des pores nucléaires. De Otsuka et al., 2018.....	88
Figure I. 21 Coupes de microscopie électroniques de pores à différents points de temps allant de l'assemblage à la maturation avec à droite le schéma du modèle d'assemblage des pores nucléaires en interphase. De Otsuka et al., 2016	90
Figure I. 22 : Schéma des différents événements accompagnant la rupture de l'enveloppe nucléaire	94
Figure I. 23 : Schéma représentant la région core et la région non core ainsi que les deux voies principales de reformation de l'enveloppe nucléaire	96

Figures de résultats

Figure R. 1.....	118
Figure R. 2.....	124
Figure R. 3.....	130
Figure R. 4.....	134
Figure R. 5.....	138

Figures de discussion

Figure D. 1 Schéma récapitulatif des différents régulateurs de l'enveloppe d'intercinèse ..	152
---	-----

Figure D. 2 : Schéma récapitulatif des rôles de MEL-28 en intercinèse.....	156
Figure D. 3 : Le recrutement de GFP::LEM-2 n'est pas accéléré en absence de kinétochores	158
Figure D. 4 : Variabilité des échantillons après la déplétion de NPP-12 et NPP-19 par ARN intérférents.....	162
Figure D. 5 : Schéma récapitulatif des rôles de BAF-1 en intercinèse	164
Figure D. 6 : Les membranes de l'enveloppe d'intercinèse sont potentiellement originaires de fragments de membranes se localisant autour du fuseau.	168
Figure D. 7 : Schéma représentant le rôle de l'enveloppe d'intercinèse dans le maintien des lots de chromosomes en cours de ségrégation	170
Figure D. 8 : Schéma récapitulatif du modèle proposé pour la formation et la régulation de l'enveloppe d'intercinèse	172

Liste des abréviations

AID : Auxin Inducible Degron	LIN : abnormal cell LINEage
ASPM : Abnormal Spindle and Microcephaly	LINC : Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton
BAF : Barrier to Autointegration Factor	MEL : Maternal Effect Lethal
CCAN : Constitutive Centromere Associated Network	MIS : Missegregation
CDK : cyclin dependent kinase	MN : Membrane Nucléaire
CENP : Centromeric Protein	MSP : Major Sperm Protein
CHMP : Charged multivesicular body protein	MTOC : MicroTubule Organizing Center
CMD : calmoduline	NDC : Nuclear Division Cycle
CPC : Chromosomal Passenger Complex	NPP : Nuclear Pore Protein
DTC : Distal Type Cell	PLK : Polo Like Kinase
ELYS : Embryonic Large molecule derived from Yolk Sac	POM : Pore Membrane protein
EMR-1 : Emerine	PP Protein phosphatase
ESCRT : Endosomal Sorting Complex Required for Transport	RAE : RNA Export Factor
FG : phenylalanine-glycine	RE : Réticulum Endoplasmique
GFP : Green Fluorescent Protein	RER : Réticulum Endoplasmique Rugueux
HCP : HoloCentric Protein	RHD : Reticulon Homology Domain
HIM : High Incidence of Males	SAC : Spindle Assembly Checkpoint
KASH : Klarsicht, ANC-1, Syne Homology	SKA : Spindle and Kinetochore-Associated complex
KLP : Kinesin Like Protein	SP12: Signal Peptidase of 12kDa
KMN : Knl1-Mis12-Ndc80	SUN: Sad1 and UNC-84 homology domain
KNL : Kinetochore Null Like	TPR : Translocated Promoter Region
LAP : Lamina associated protein	Vps : vacuolar protein sorting
LEM : LAP2, Emerin, and MA	VRK : Vaccinia Related Kinase
LH : Luteinizing Hormone	ZYG : Zygote defective protein

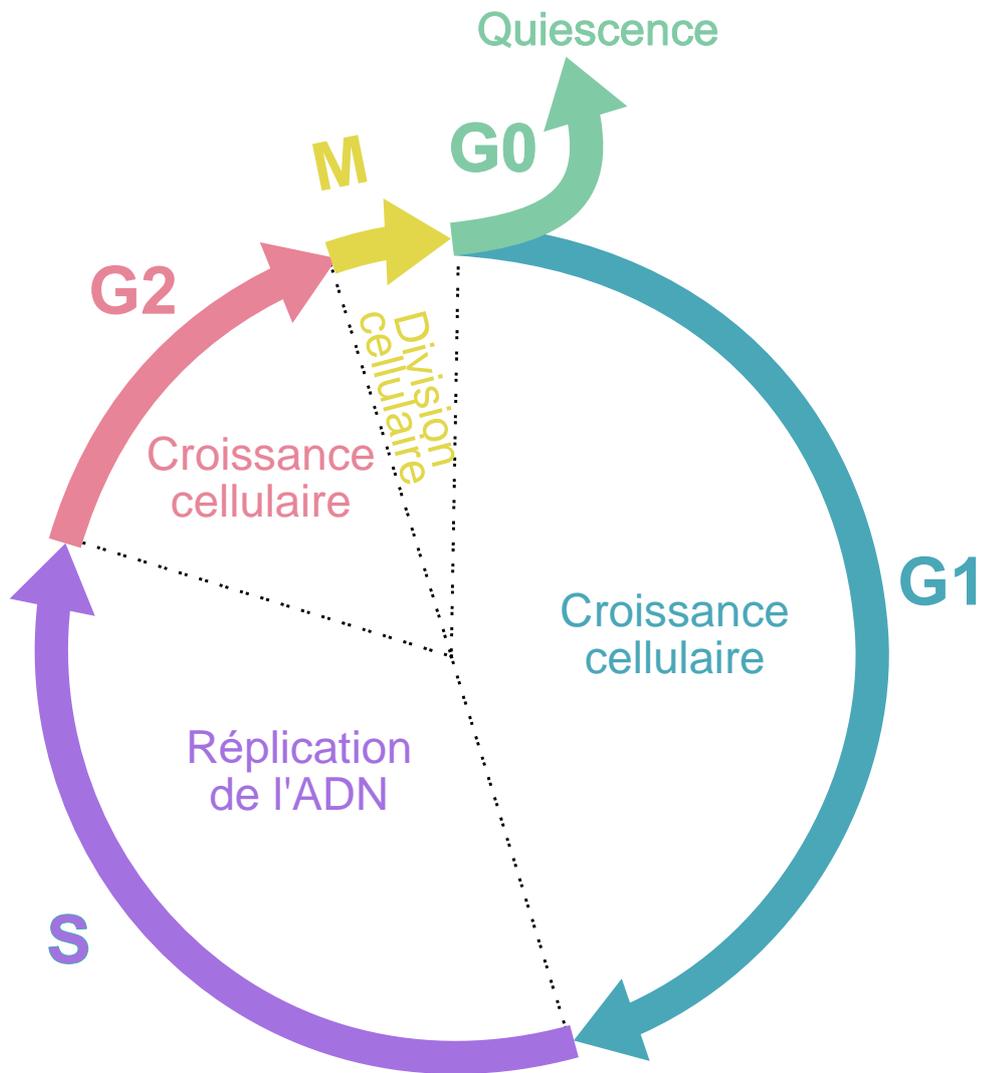


Figure I. 1 Schéma du cycle cellulaire

Introduction

I. Le Cycle Cellulaire

Le cycle cellulaire est un ensemble ordonné d'événements dont le but est d'assurer la division cellulaire. Il est constitué de deux étapes majeures : l'interphase et la mitose (Figure I.1.).

A la sortie de mitose, la cellule peut soit interrompre le cycle cellulaire et entrer en quiescence (phase G0), soit s'engager dans le cycle et progresser à la première étape de l'interphase, la phase G1. Durant cette phase, la cellule croît et synthétise les protéines nécessaires à la réplication de l'ADN. La phase S est caractérisée par la duplication de différents composants cellulaires, dont le centrosome qui est le centre majeur d'organisation des microtubules (MicroTubule Organizing Center, MTOC). Elle est aussi caractérisée par la réplication de chaque chromosome pour former les deux chromatides sœurs. Les chromatides sœurs sont maintenues en paires par un complexe multiprotéique constitué de protéines appelées cohésines. La phase suivante est appelée G2. C'est une deuxième étape de croissance cellulaire. Plusieurs protéines y sont synthétisées afin de préparer l'entrée en phase M (méiose ou mitose).

1. La mitose

La mitose est généralement la phase la plus courte du cycle cellulaire. Elle se déroule en cinq étapes coordonnées afin d'assurer une ségrégation correcte des chromatides sœurs et la production de deux cellules filles identiques génétiquement qui vont à leur tour entrer dans le cycle cellulaire (Figure I.2.).

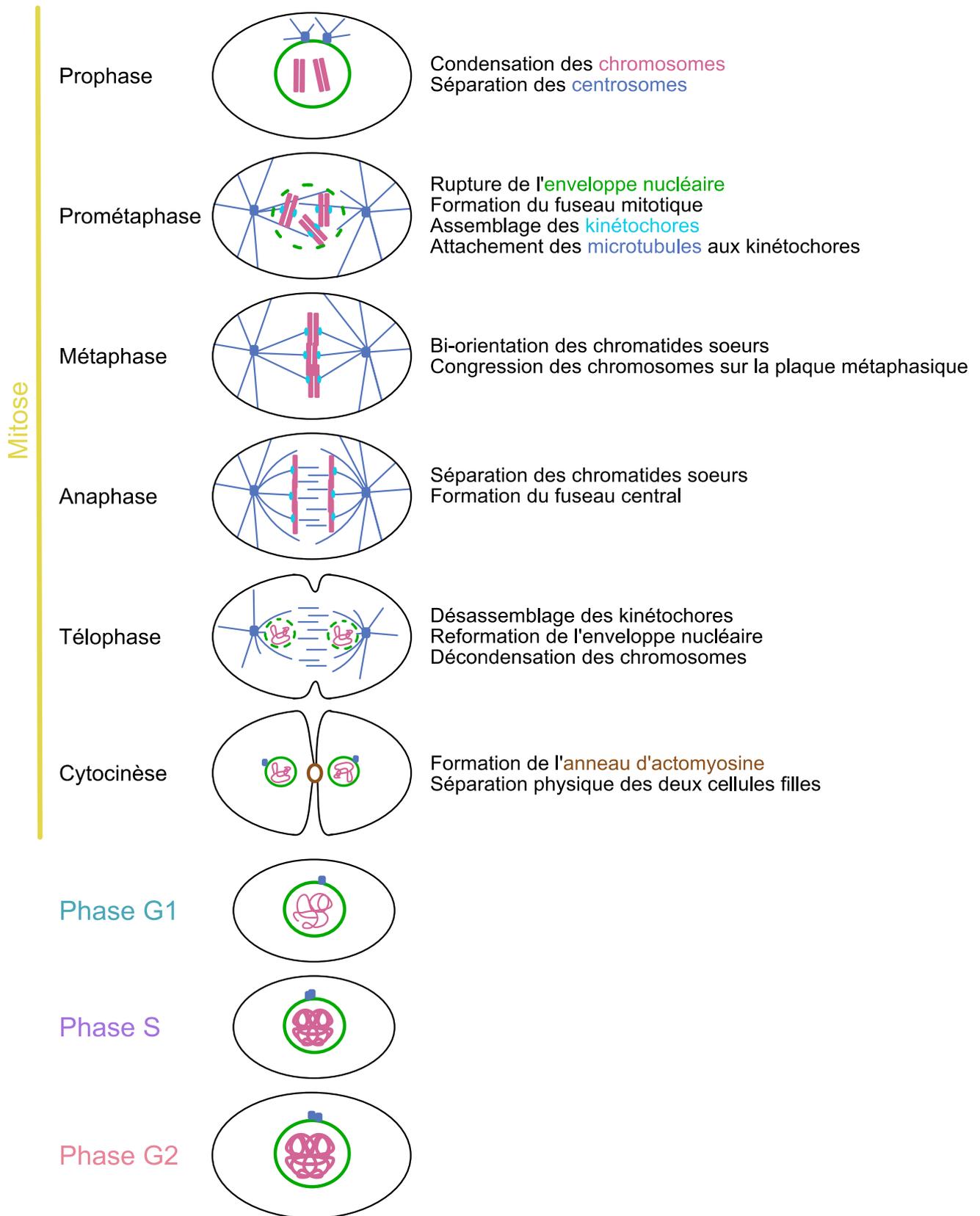


Figure I. 2 : Schéma de la mitose dans le cycle cellulaire

La première étape de la mitose est la prophase caractérisée par la condensation de la chromatine en chromosomes individualisés. Parallèlement, les centrosomes se séparent et migrent de part et d'autre du noyau. De manière concomitante, le fuseau mitotique composé de microtubules commence à s'organiser autour des centrosomes formant ainsi une structure bipolaire.

La prométaphase est marquée par l'assemblage aux centromères des kinétochores, des complexes protéiques qui assurent le lien entre les chromosomes et les microtubules du fuseau. Simultanément, l'enveloppe nucléaire se rompt permettant ainsi aux microtubules émanant des centrosomes de s'attacher aux kinétochores. Les chromosomes commencent leur migration vers la plaque équatoriale du fuseau ou plaque métaphasique. Ce phénomène s'appelle la congression.

En métaphase, les chromosomes sont alignés sur la plaque équatoriale. Les chromosomes y sont orientés de manière à ce que chaque chromatide sœur soit attachée aux microtubules émanant d'un pôle opposé du fuseau de division. Ce processus s'appelle la bi-orientation.

Puis en anaphase, le clivage des cohésines permet la séparation des chromatides sœurs. Deux lots de chromatides sœurs sont alors visibles. Entre ces deux lots s'assemblent les microtubules du fuseau central.

Enfin, la télophase est caractérisée par l'arrêt de la ségrégation des chromosomes et le désassemblage des kinétochores. L'enveloppe nucléaire se reforme autour des chromosomes en cours de décondensation.

Après la ségrégation des chromosomes et la formation de deux noyaux, s'organise la séparation physique des cellules filles, appelée cytokinèse. Elle intervient grâce à la formation d'un anneau d'actomyosine, composé d'actine et de myosine, qui en se resserrant forme le sillon de division et permet la séparation physique des deux cellules filles. L'étape finale de séparation des cellules filles est appelée l'abscission.

La mitose a généralement lieu dans les cellules somatiques et est importante pour le développement embryonnaire, la croissance des organismes et l'homéostasie tissulaire. Les défauts de ségrégation des chromosomes en mitose peuvent conduire à un défaut numérique de chromosomes, appelé aneuploïdie, qui peut être la cause de cancers ou de défauts de développement si elle survient pendant les premières divisions de l'embryon.

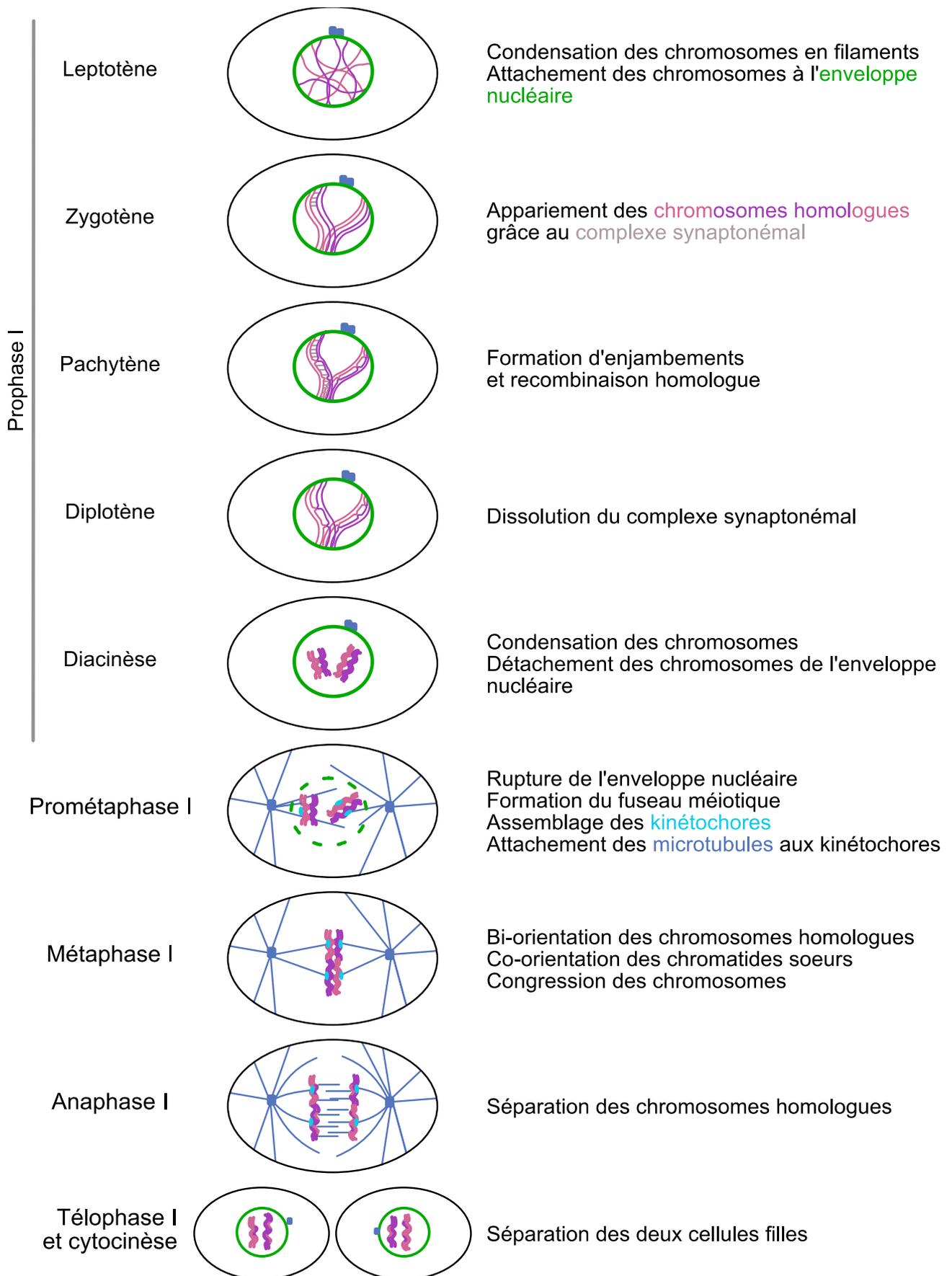


Figure I. 3 : Schéma de la méiose I

2. La méiose

La mitose n'est pas le seul mode de division chez les eucaryotes. La méiose assure la production des gamètes, qui sont des cellules haploïdes nécessaires à la reproduction. La méiose correspond à deux étapes successives de divisions cellulaires après une seule phase de réplication de l'ADN. Cette haploïdisation du génome est nécessaire afin de maintenir la diploïdie des espèces lors de la fécondation.

La première division méiotique, également appelée « méiose réductionnelle » ou « méiose I », assure la séparation des chromosomes homologues d'origine paternelle et maternelle. La méiose I est marquée par une longue étape de prophase qui se divise en cinq stades (Figure 1.3.).

Le stade leptotène, les chromosomes homologues se condensent en filaments et s'attachent à l'enveloppe nucléaire.

Au stade zygotène, les chromosomes homologues s'alignent et s'apparient grâce au complexe synaptonémal. On parle dès lors de chromosomes bivalents ou de tétrades de chromatides sœurs.

Durant le troisième stade, appelé pachytène, l'échange de matériel génétique entre les chromatides non-sœurs a lieu via la formation d'enjambements. Ce processus est appelé recombinaison homologue et permet le brassage de l'information génétique.

Le stade diplotène est marqué par la dissolution du complexe synaptonémal. Cependant, chaque tétrade reste attachée au niveau d'un ou des chiasmas formés lors de la recombinaison homologue.

Enfin, a lieu la diacinèse durant laquelle les chromosomes se condensent et se détachent de l'enveloppe nucléaire.

En prométaphase I, l'enveloppe nucléaire se rompt et les kinétochores se forment au niveau des centromères. En métaphase I, les bivalents se positionnent au niveau de la plaque équatoriale grâce à l'attachement des microtubules aux kinétochores. A ce stade, les chromosomes homologues sont bi-orientés. Les chromatides sœurs d'une même paire sont co-orientées, c'est à dire attachées par les microtubules émanant du même pôle du fuseau. En anaphase I, les bivalents se séparent et migrent aux pôles du fuseau.

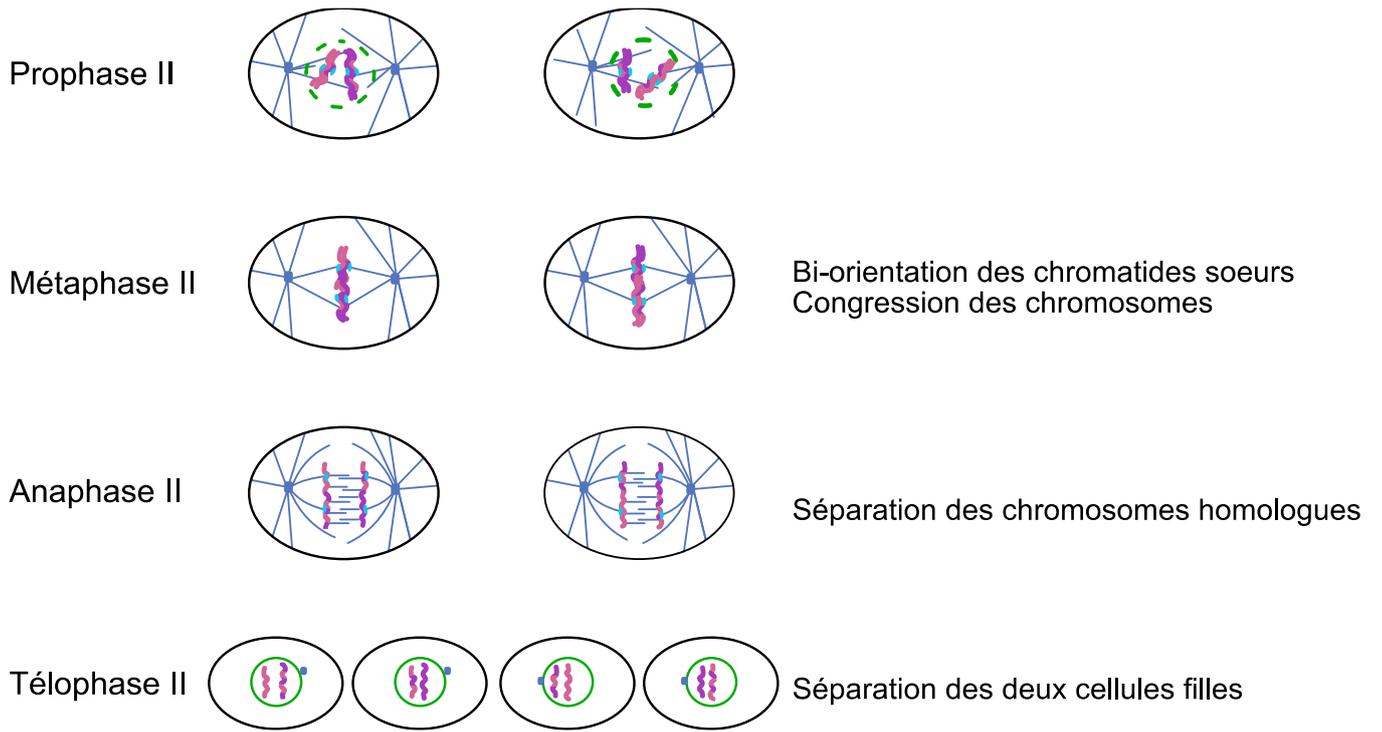


Figure I. 4 : Schéma de la méiose II

Cette étape est suivie par la télophase I et la cytokinèse I qui permettent la séparation en deux cellules filles. La deuxième division méiotique, également appelée « méiose équationnelle » ou « méiose II », est assimilée à la mitose car elle correspond à la bi-orientation des paires de chromatides sœurs, puis à leur ségrégation (Figure I.4.). Contrairement à la mitose, la méiose II se déroule dans des cellules haploïdes et n'est pas précédée par une étape de réplication de l'ADN.

A la fin de la méiose, les quatre gamètes produits sont différents. Tout comme la mitose, la méiose nécessite d'être finement régulée. Les défauts de ségrégation des chromosomes en méiose peuvent conduire à de l'aneuploïdie, et peuvent être la cause d'infertilité, d'avortements spontanés ou de défauts développementaux.

2. 1. La méiose mâle et la méiose femelle

Selon que la méiose a lieu dans l'appareil reproducteur mâle ou femelle, le produit final diffère.

La méiose mâle permet la production, à partir d'une cellule mère, de quatre gamètes mâles (spermatides).

La méiose femelle, quant à elle, permet la production d'un seul ovocyte fonctionnel. En effet, chaque division est asymétrique et accompagnée de l'expulsion d'un globule polaire contenant les chromosomes homologues ou chromatides sœurs excédentaires en méiose I et II respectivement. Cette asymétrie permet de conserver dans l'ovocyte la majorité des organelles et des nutriments nécessaires à l'embryogénèse précoce.

L'ovogénèse est marquée par un ou des arrêts du cycle cellulaire (Figure I.5.). Le premier arrêt est universel et a lieu en prophase I au stade diplotène. Cet arrêt peut durer de quelques minutes (chez *C. elegans*) à plusieurs années (chez l'être humain)(Von Stetina et Orr-Weaver 2011). La sortie de cet arrêt nécessite un stimulus hormonal (l'hormone lutéinisante (LH) chez les mammifères ou la protéine des spermatozoïdes MSP chez *C. elegans*)(Masui 2001).

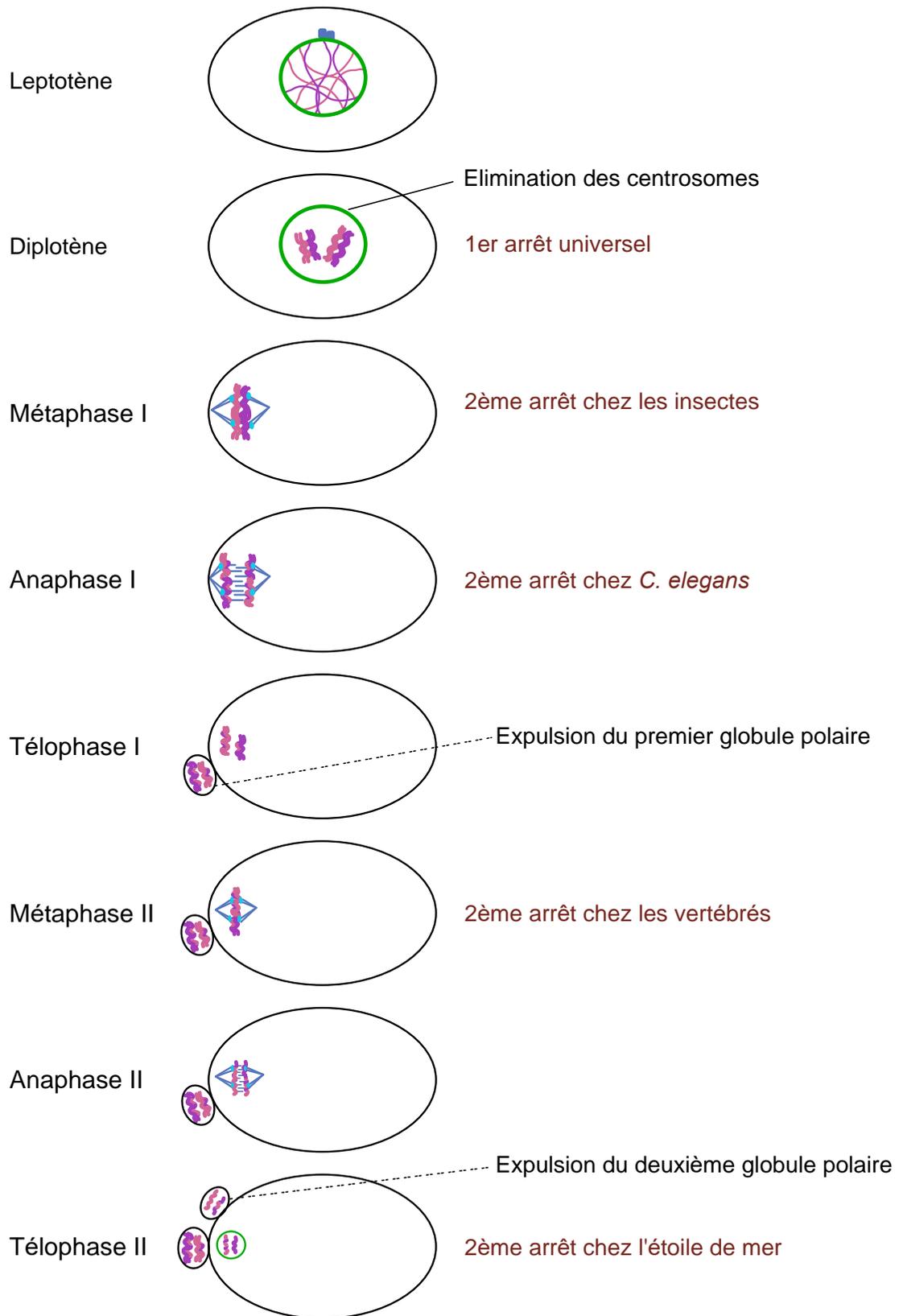


Figure I. 5 Schéma de la méiose femelle et des arrêts de l'ovogénèse chez différents organismes

Le deuxième arrêt est facultatif et est spécifique à chaque espèce. Il a généralement lieu avant la fécondation : en métaphase I chez les insectes, en métaphase II chez la majorité des vertébrés ou après les deux divisions méiotiques chez l'étoile de mer (Von Stetina et Orr-Weaver 2011). Chez *C. elegans*, cet arrêt secondaire a lieu après la fécondation (qui intervient en prophase I) et ne peut être mis en évidence qu'expérimentalement par l'utilisation d'une lignée mutante présentant des spermatozoïdes défectueux non fécondant. Ces spermatozoïdes sont malgré tout capables de sécréter la protéine MSP nécessaire à la levée de l'arrêt primaire en prophase I. Dans cette lignée, les ovocytes non fécondés marquent un arrêt de quelques minutes en anaphase I, correspondant à l'arrêt méiotique secondaire, avant de se décondenser et de rentrer directement en interphase post-méiotique (K. L. McNally et McNally 2005).

Dans l'ovocyte, les deux divisions méiotiques sont séparées par une courte phase appelée intercinèse. Durant cet intervalle, les chromosomes restent condensés, tandis que le fuseau de première division méiotique est complètement désassemblé. Il est généralement admis que l'état condensé des chromosomes signifie que l'intercinèse ne correspond pas à une réelle interphase et que l'enveloppe nucléaire ne se reforme pas. Cependant, des observations de mon équipe d'accueil et d'autres ont démontré la présence d'une enveloppe qui entoure les chromosomes condensés dans l'ovocyte de *C. elegans* (Laband et al. 2017; Penfield et al. 2020). Dans ce manuscrit, je définirai donc l'intercinèse chez *C. elegans* comme le laps de temps entre le début de l'expulsion du premier globule polaire et l'entrée en méiose II.

Dimère de tubuline

α β

Protofilament (-)

(+)

Tube

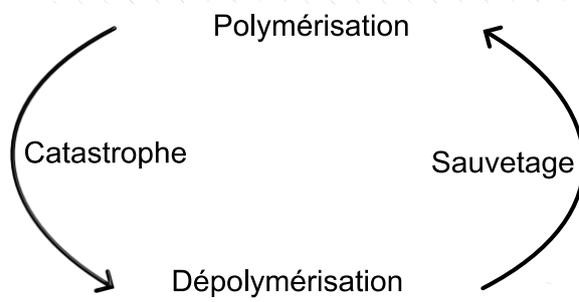


Figure I. 6 Schéma représentant la structure et la dynamique des microtubules

II. Les acteurs de la division cellulaire

1. Les microtubules

En mitose comme en méiose, les forces nécessaires à l'alignement et à la ségrégation des chromosomes sont générées par les microtubules.

Les microtubules sont un des trois composants du cytosquelette. Ils jouent un rôle majeur dans la division cellulaire en formant le fuseau de division. Les microtubules sont des polymères composés d'hétérodimères de tubuline α et β (Figure 1.6.). Plusieurs hétérodimères de tubulines peuvent s'assembler pour former un protofilament. Un microtubule correspond généralement à l'association latérale de 13 protofilaments pour former un tube de 25 nm de diamètre. L'alternance d'hétérodimères de tubuline α et β confère au microtubule une polarité. L'extrémité (-) correspond à l'extrémité présentant la sous-unité α , tandis que l'extrémité (+) correspond à l'extrémité où la sous-unité β est exposée. La différence de polarité entre les deux extrémités induit une différence de dynamique. En effet, l'extrémité (-) est beaucoup plus stable, et est en contact avec les sites de nucléation des microtubules, tandis que l'extrémité (+) est plus dynamique. Les microtubules oscillent entre des événements de croissance, de raccourcissement et de pause.

In vivo, les microtubules sont généralement assemblés à partir de MTOCs dont le plus commun est le centrosome situé aux pôles des fuseaux mitotiques. Mais, les microtubules peuvent aussi être nucléés à partir d'autres organelles, tels que l'appareil de Golgi, l'enveloppe nucléaire, la chromatine ou les kinétochores (J. Wu et Akhmanova 2017).

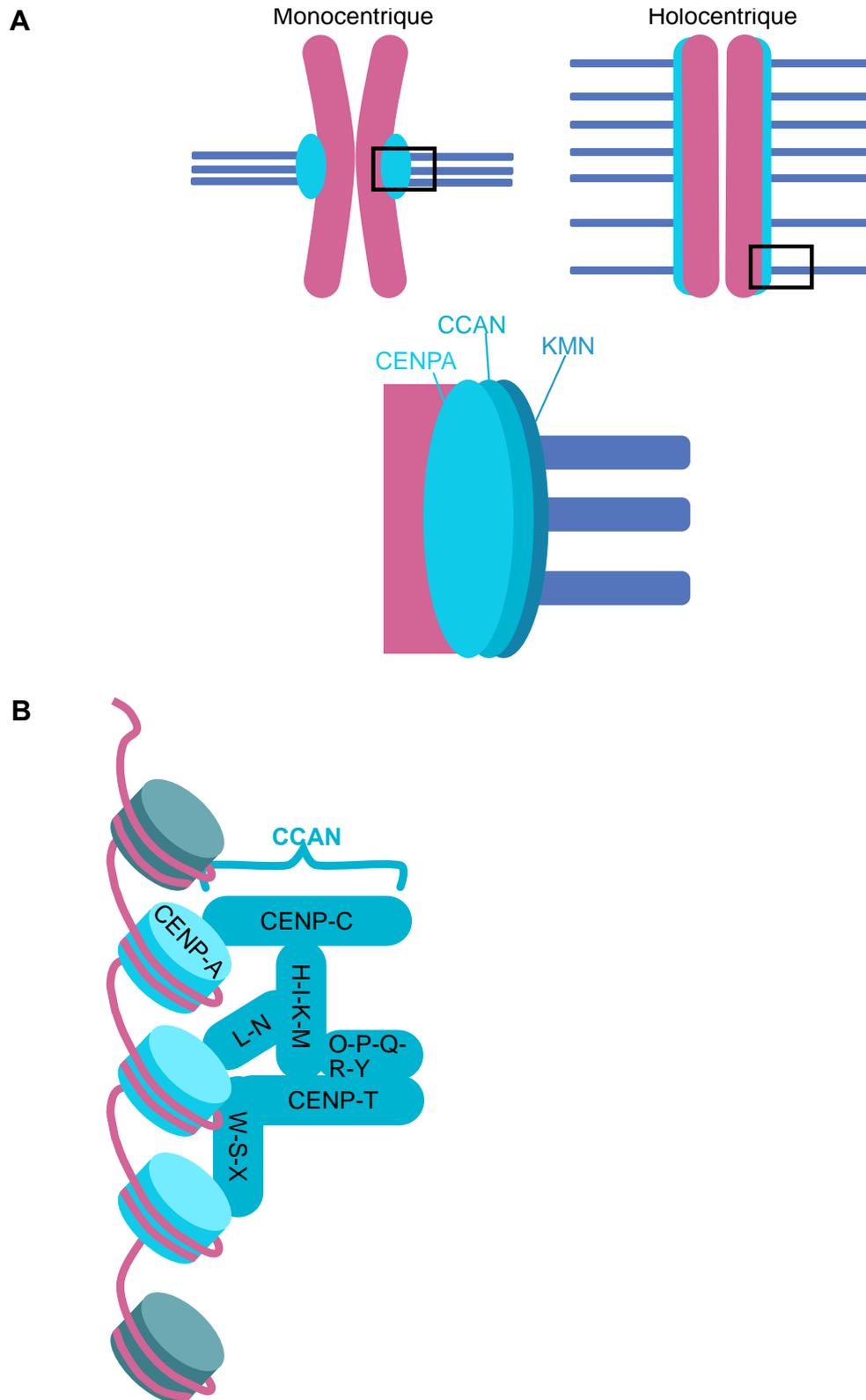


Figure I. 7 : (A) Schémas représentant un chromosome monocentrique et un chromosome holocentrique et les différentes couches des kinétochores. (B) Schéma représentant CENP-A et les protéines du CCAN

2. Les kinétochores

Le kinétochore est un complexe multiprotéique qui assure le lien physique entre les chromosomes et les microtubules. Ce lien est important pour l'orientation et le positionnement des chromosomes sur la plaque métaphasique, puis pour leur ségrégation en anaphase. On distingue deux types d'organisation des centromères et d'architecture des kinétochores (Figure I.7A). Dans les organismes monocentriques, les centromères et les kinétochores sont localisés à un endroit précis, généralement concentrés au niveau de la constriction primaire des chromosomes. Dans les organismes holocentriques, le centromère est diffus et les kinétochores s'assemblent sur toute la longueur des chromatides sœurs. Le kinétochore est structuré en différentes couches de protéines. On distingue généralement le kinétochore interne et le kinétochore externe.

2. 1. Le kinétochore interne

Les kinétochores s'assemblent au niveau des centromères qui sont caractérisés par la présence du variant de l'histone H3 CENP-A (Centromere Protein A) (Earnshaw et Cooke 1989; Stirpe et Heun 2022).

CENP-A permet le recrutement de plusieurs protéines du kinétochore interne qui forment un réseau protéique constitutivement associé aux centromères (Constitutive Centromere Associated Network, CCAN) (Dong et Li 2022) (Figure I.7B). Chez les vertébrés, le CCAN est organisé en 5 sous-complexes et peut contenir jusqu'à 16 protéines : CENP-C, CENP-H/I/K/M, CENP-L/N, CENP-O/P/Q/R/U, et CENP-T/W/S/X. Les protéines du CCAN jouent un rôle dans le maintien des centromères, le recrutement des protéines du kinétochore externe et la congression des chromosomes. Elles sont constamment liées aux centromères. La composition du CCAN diffère entre les organismes, sauf en ce qui concerne la protéine CENP-C qui est conservée de la levure à l'être humain (Sridhar et Fukagawa 2022). Chez *C. elegans*, HCP-4^{CENP-C} est d'ailleurs la seule représentante du CCAN (Drinnenberg, Henikoff, et Malik 2016).

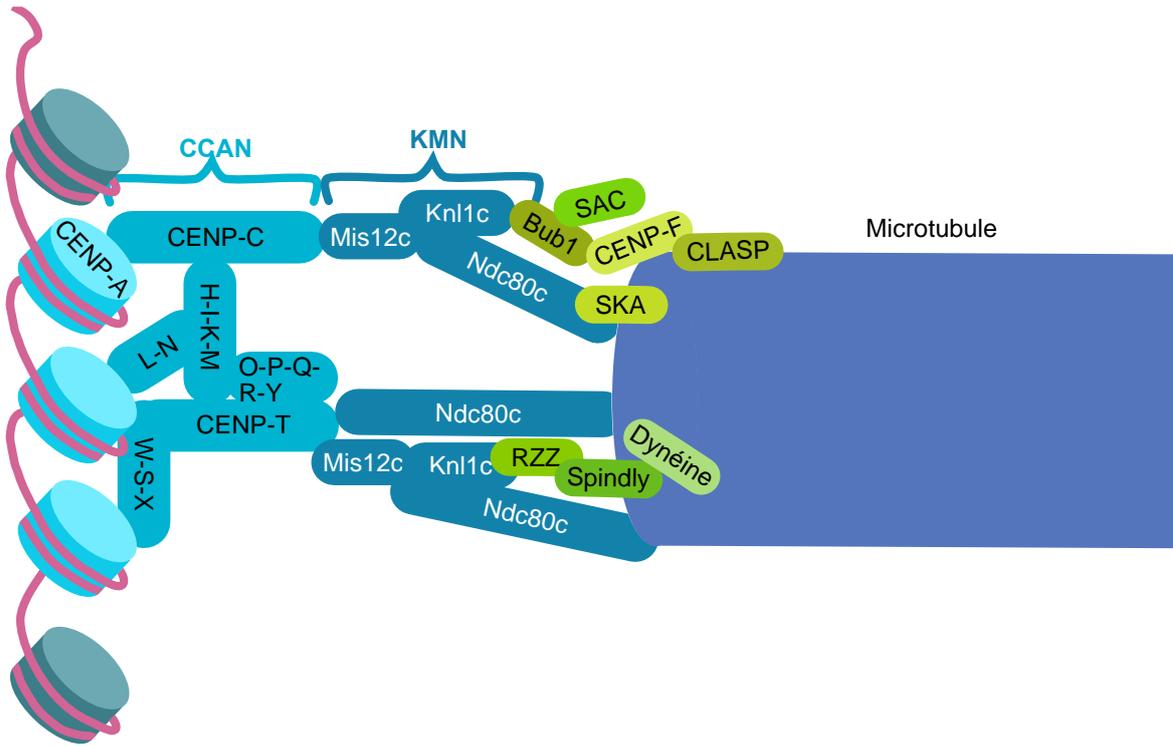


Figure I. 8 : Schéma représentant les protéines du réseau KMN et les protéines associées aux kinétochores

2. 2. Le kinétochore externe

Le kinétochore externe est formé du réseau KMN composé des sous-complexes Knl1c (hétérodimère de knl1 et Zwnt), Mis12c (hétérotétramère de Mis12, Pmf1, Nsl1 et Dsn1) et Ndc80c (hétérotétramère de Ndc80, Nuf2, Spc24 et Spc25) (Figure I.8). Tandis que le CCAN est toujours lié aux centromères, le recrutement du réseau KMN est dépendant du cycle cellulaire (Gascoigne et Cheeseman 2013; Hara et Fukagawa 2018). Chaque sous-complexe du réseau KMN joue un rôle spécifique.

A l'entrée en mitose, CENP-C, CENP-T et CENP-Q-U permettent le recrutement de la protéine Mis12. Le complexe Mis12c recrute alors à son tour le complexe Ndc80c. Alternativement CENP-T peut recruter directement le sous-complexe Ndc80c. Le complexe Ndc80c permet alors l'attachement des microtubules via leur extrémité (+) et est capable de suivre ces extrémités dynamiques lors des phases de polymérisation et de dépolymérisation. Il est également capable de résister à la charge que représente un chromosome. C'est donc principalement le complexe Ndc80c qui transmet la dynamique des microtubules kinétochoriens en mouvements coordonnés des chromosomes. La fonction principale de Knl1c est de maintenir l'intégrité du réseau KMN. Knl1c permet également le recrutement de protéines de signalisation comme la protéine phosphatase 1 (PP1) et les protéines du point de contrôle du fuseau (Spindle Assembly Checkpoint, SAC) Bub1 et Bub3 (Musacchio et Desai 2017; Sridhar et Fukagawa 2022).

Contrairement au CCAN, le réseau KMN est évolutivement très conservé. Chez *C. elegans*, il est composé de KNL-1^{Spc105}, le sous complexe Mis12c de MIS-12^{Mis12}, KNL-3^{Dsn1}, KBP-1^{Nsl1} et KBP-2^{Pmf1} et enfin le sous-complexe Ndc80c de NDC-80^{Hec1}, HIM-10^{Nuf2}, KBP-3^{Spc25} et KBP-4^{Spc24} (Pintard et Bowerman 2019).

2. 3. Autres protéines assurant la liaison avec les microtubules

Le kinétochore externe est crucial pour l'interaction entre les microtubules et les kinétochores, il existe néanmoins d'autres protéines kinétochoriennes qui interagissent avec les microtubules du fuseau (Figure I.8).

Il s'agit notamment du complexe SKA (Spindle and Kinetochore-Associated complex) dont le recrutement aux kinétochores dépend de Ndc80 et des microtubules, et qui renforce les attachements Ndc80c-dépendants. Le complexe RZZ/spindly (composé de ROD-1^{Rod}, ZWL-1^{Zwilch}, CZW-1^{ZW10} et SPDL-1^{Spindly} chez *C. elegans*) permet le recrutement du moteur microtubulaire dynéine aux kinétochores. En prométaphase, la dynéine promeut les interactions latérales initiales entre les microtubules et les kinétochores. Ces interactions aident à l'orientation correcte des kinétochores favorisant leur capture par le complexe Ndc80c. Enfin, le module BHC (composé de BUB-1^{Bub1}, HCP-1/2^{CENP-F} et CLS-2^{CLASP} chez *C. elegans*) est important pour le contrôle de la dynamique des microtubules kinétochoriens (Macaisne et al. 2022).

Le contrôle des attachements entre les kinétochores et les microtubules est réalisé par le SAC. Le rôle du SAC est de retarder la séparation des chromatides sœurs en cas de défauts d'attachement entre les microtubules et les kinétochores. Le SAC est composé de Bub1, Bub3, Mad1, Mad2 et BubR1 (Pintard et Bowerman 2019).

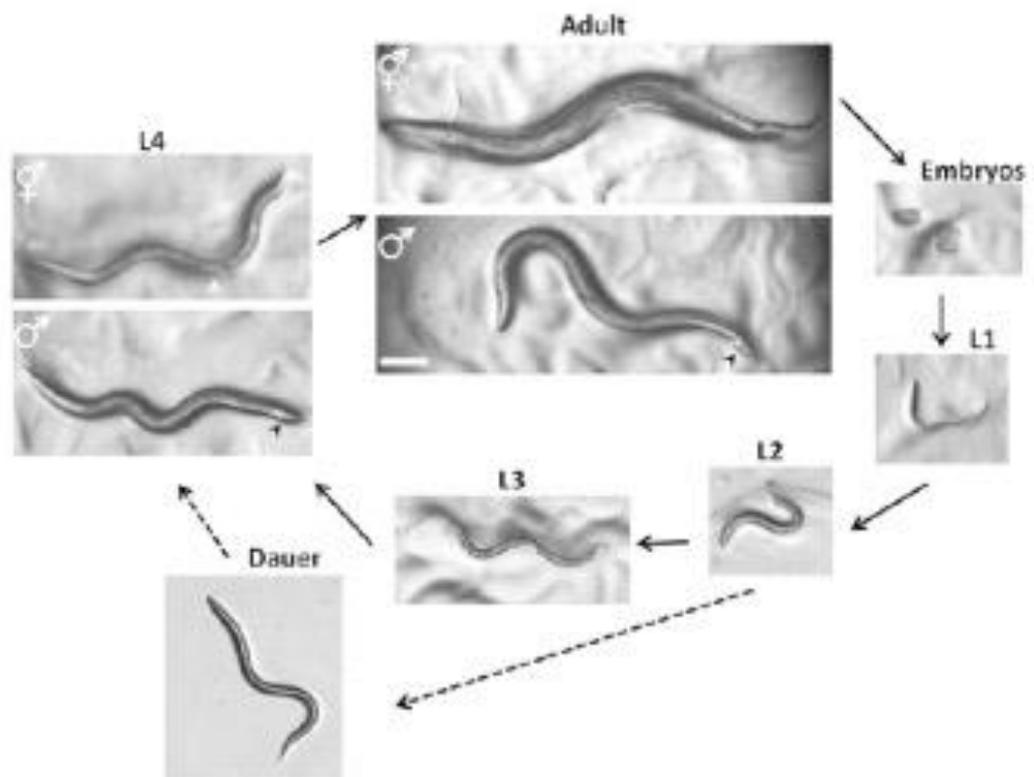


Figure I. 9 : Images représentant les différents stades du cycle de vie de *C. elegans*. (Corsi et al., 2015)

III. *C. elegans* comme organisme modèle

L'organisme utilisé au cours de ma thèse est le nématode *Caenorhabditis elegans*. *C. elegans* a un cycle de vie relativement court (entre trois et quatre jours à température ambiante) correspondant à un stade embryonnaire et quatre stades larvaires (de L1 à L4), avant d'atteindre le stade adulte (Figure I.9). *C. elegans* possède un nombre fixe de cellules dont le lignage cellulaire est strict (Sulston et al. 1983), ce qui en fait un modèle de choix pour la biologie cellulaire et du développement. *C. elegans* existe à l'état hermaphrodite auto-fécondant (XX) ou mâle (X0) capable de féconder les hermaphrodites. L'autofécondation assure le maintien de descendants génétiquement identiques, tandis que la fécondation par les mâles permet la diversité génétique.

C. elegans hermaphrodite possède 6 paires de chromosomes portant environ 20.000 gènes. Son séquençage complet a permis d'identifier plus de 74% de gènes conservés entre *C. elegans* et l'humain (*C. elegans* Sequencing Consortium 1998; Kuwabara et O'Neil 2001). Un avantage majeur pour l'étude des divisions méiotiques de l'ovocyte de *C. elegans* est leur rapidité (les deux divisions méiotiques et la première division mitotique du zygote s'opèrent en 80 minutes) et la possibilité de les suivre *ex utero* en microscopie.

La nature syncytiale de la gonade et l'autofécondation permettent l'utilisation de l'ARN interférent de manière très efficace. En effet, la gonade syncytiale permet aux ARNs double-brin d'accéder au cytoplasme de tous les ovocytes en cours de maturation. L'autofécondation associée à la ponte continue d'embryons entraîne l'« expulsion » continue du cytoplasme maternel en dehors de la gonade. Ceci favorise l'élimination rapide et efficace des protéines maternelles préexistantes dans les ovocytes. Ainsi, l'injection d'un ARN double-brin dans une larve L4, assure la déplétion presque complète (>95%) de la protéine cible dans la gonade, puis dans les embryons après 36 à 48h (Oegema et Hyman 2006).

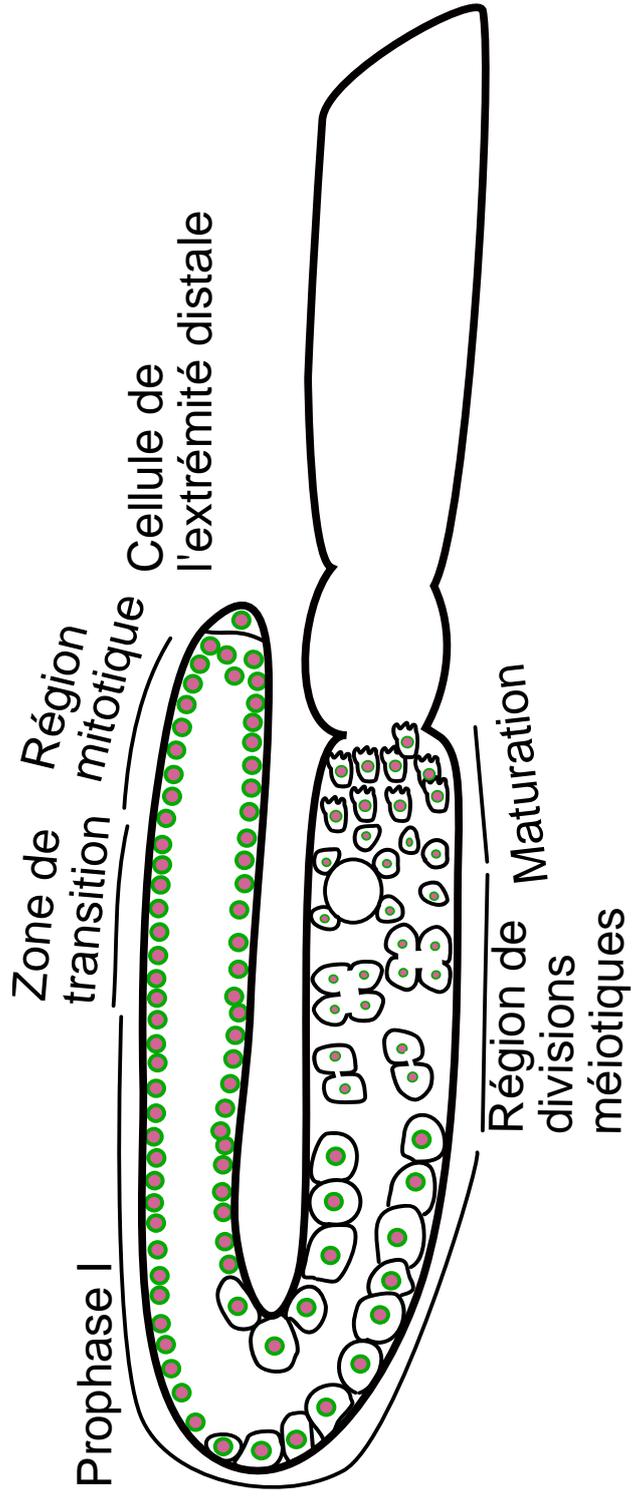


Figure I. 10 Schéma représentant la spermatogénèse dans la gonade de *C. elegans*. Inspiré de Wang et al., 2022 dans la gonade de *C. elegans*. Inspiré de Wang et al., 2022

IV. La méiose chez *C. elegans*

L'autofécondation nécessite la production de gamètes mâles et femelles au sein du même individu. Chez *C. elegans*, la production des spermatozoïdes et des ovocytes a lieu au sein de la même gonade mais à des stades différents du développement. En effet, les spermatozoïdes sont produits durant le stade larvaire L4, tandis que les ovocytes sont produits tout au long de la vie adulte du ver.

1. Formation d'un réservoir de spermatozoïdes

La spermatogénèse, chez *C. elegans*, a lieu durant le stade L4 dans la partie proximale de la gonade, appelée également zone de division méiotique (Figure I.10). Le spermatocyte primaire, après une première division méiotique sans abscission, permet la production de deux spermatocytes secondaires liés physiquement. Ces deux spermatocytes entrent ensuite simultanément en méiose II, et se divisent en quatre spermatides (X. Wang et al. 2022). Chaque bras de gonade permet la production de plus de 150 spermatides qui s'accumulent dans la gonade proximale, puis sont « poussées » et stockées dans la spermathèque au passage du premier ovocyte (lors de la première ovulation). En entrant dans la spermathèque, les spermatides vont maturer et devenir des spermatozoïdes via un processus appelé spermiogénèse. Cette maturation permet l'acquisition de la motilité amiboïde grâce à la formation d'un pseudopode (Marcello, Singaravelu, et Singson 2013).

2. Formation d'un ovocyte fonctionnel

Le ver adulte est composé de deux bras de gonades symétriques. Chaque bras est composé d'une partie proximale et d'une partie distale. L'extrémité distale de la gonade, aussi appelée région mitotique, est composée de la cellule de l'extrémité distale (Distal Tip Cell, DTC) (Figure I.11). Elle régule les divisions mitotiques des cellules souches de la lignée germinale (PGCs,

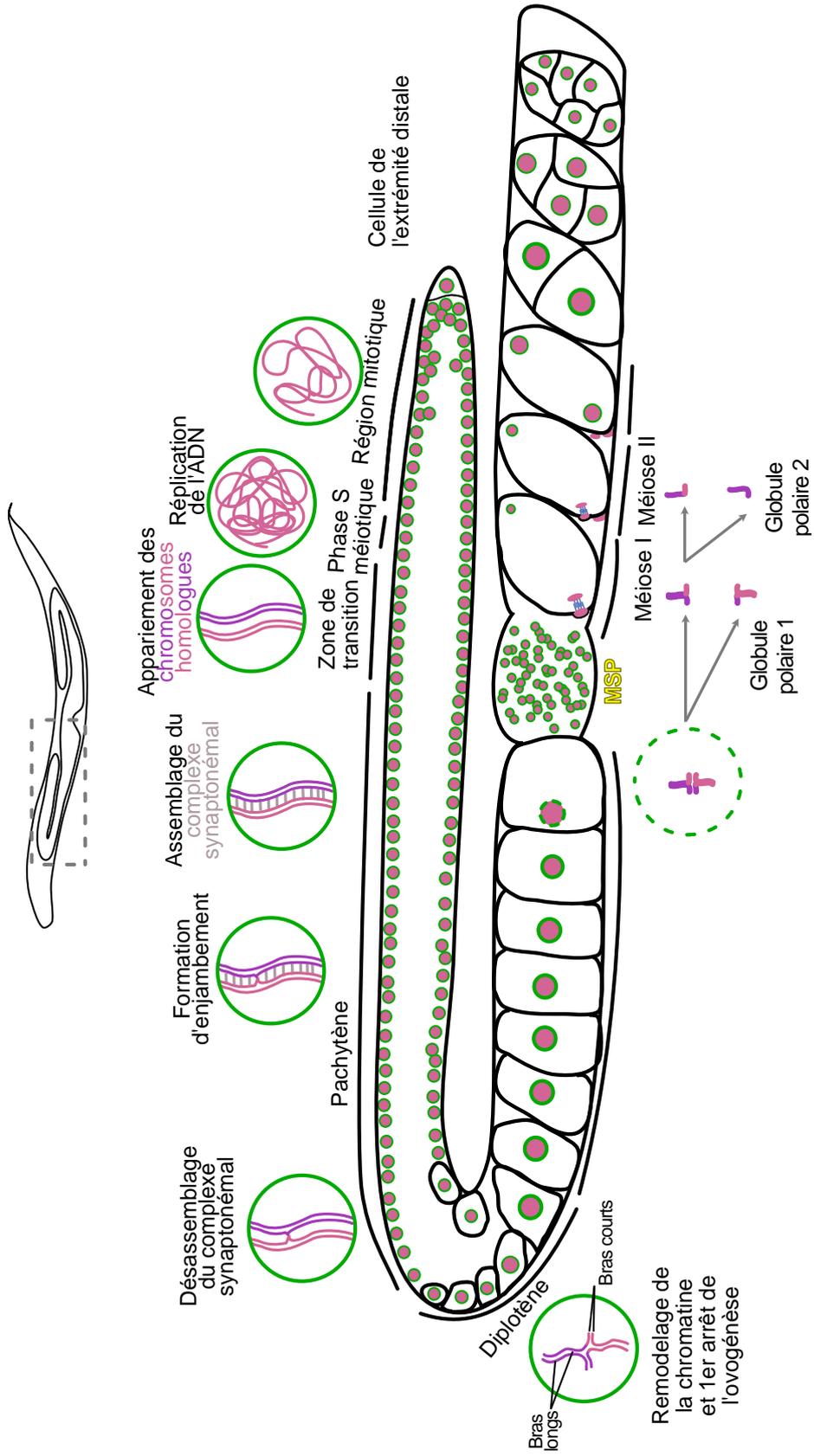


Figure I. 11 Schéma représentant l'ovogénèse dans la gonade de *C. elegans*. Inspiré de Hilliers et al., 2016

Progenitor Germ Cells) via la voie de transduction GLP-1 (qui est un récepteur à Notch). En effet, GLP-1 est exprimée dans les cellules germinales, tandis que la DTC exprime les ligands LAG-2 et APX-1 (Kimble et White 1981; Crittenden et al. 1994; Henderson et al. 1994). En s'éloignant de la DTC, les noyaux syncytiaux des PGCs ne reçoivent plus le ligand nécessaire à leur maintien en mitose. Ils entrent alors dans une phase S préméiotique (Hansen et al. 2004; Hansen et Schedl 2013). Dans la zone de transition, les noyaux effectuent les stades leptotène et zygotène de la prophase I. La chromatine se condense en filaments qui s'attachent à l'enveloppe nucléaire et s'apparient. A la sortie de la zone de transition commence le stade pachytène. A ce stade, le complexe synaptonémal s'assemble puis l'enjambement des chromatides a lieu. De manière particulière, chez *C. elegans*, un événement unique de recombinaison homologue a lieu par tétrade. Le désassemblage du complexe synaptonémal et le maintien des tétrades au niveau des chiasmas a lieu au stade diplotène qui se déroule au niveau du « coude » de la gonade. Ce stade est aussi marqué par l'élimination des centrosomes (voir plus bas) et par la cellularisation des ovocytes (chaque noyau est entouré par une membrane plasmique). Comme dans toutes les espèces, les ovocytes de *C. elegans* marquent un arrêt de l'ovogénèse en prophase I au stade diplotène (Hillers 2017). La sortie de cet arrêt nécessite le rapprochement de l'ovocyte de la spermathèque et l'entrée dans un gradient de la protéine MSP sécrétée par les spermatozoïdes (Miller et al. 2001). Ce rapprochement a lieu en diacinèse et induit la migration distale du noyau dans l'ovocyte, puis la rupture de l'enveloppe nucléaire. Durant la maturation méiotique, l'ovocyte change de forme et devient plus ovale. Le passage par la spermathèque s'accompagne de la fécondation de l'ovocyte qui entre alors en métaphase I, puis effectue les deux divisions méiotiques successives (Kimble et White 1981; Huelgas-Morales et Greenstein 2018).

3. Les spécificités de la division méiotique

Un des défis de la méiose est l'orientation et l'attachement corrects des chromosomes, couplés à la régulation de la dissolution des cohésines, afin que la ségrégation des chromosomes homologues, puis des chromatides sœurs, se fassent séquentiellement. Chez les espèces monocentriques, en méiose I, la dissolution de la cohésion au niveau des axes des chromosomes permet la séparation des chiasmas et donc des chromosomes homologues. Les chromatides sœurs restent quant à elles maintenues via la cohésine localisée au niveau des centromères. Puis, en méiose II a lieu la dissolution de la cohésion au niveau des centromères permettant la séparation des chromatides sœurs (Marques et Pedrosa-Harand 2016).

Chez les espèces holocentriques, les centromères sont diffus. D'autres stratégies ont donc été mises en place. En fin de prophase I chez *C. elegans*, la position du chiasma permet la définition dans chaque chromosome bivalent de deux domaines chromosomiques fonctionnels, appelés bras court et bras long. Les bras courts et les bras longs s'organisent sur deux axes perpendiculaires. Cette conformation confère aux chromosomes bivalents une forme ovale en « ballon de rugby », où chaque moitié correspond à un chromosome homologue. Les deux moitiés se font « face » au niveau des bras courts. En anaphase I, la cohésion se dissout au niveau des bras courts et permet la séparation des chromosomes homologues tout en protégeant la cohésion des chromatides sœurs. En méiose II, chaque chromosome se réorganise afin de positionner le bras long perpendiculairement au fuseau. La dissolution de la cohésion en anaphase II permet la séparation des chromatides sœurs (Nabeshima, Villeneuve, et Colaiácovo 2005; de Carvalho et al. 2008 ; Carlton, Davis, et Ahmed 2022).

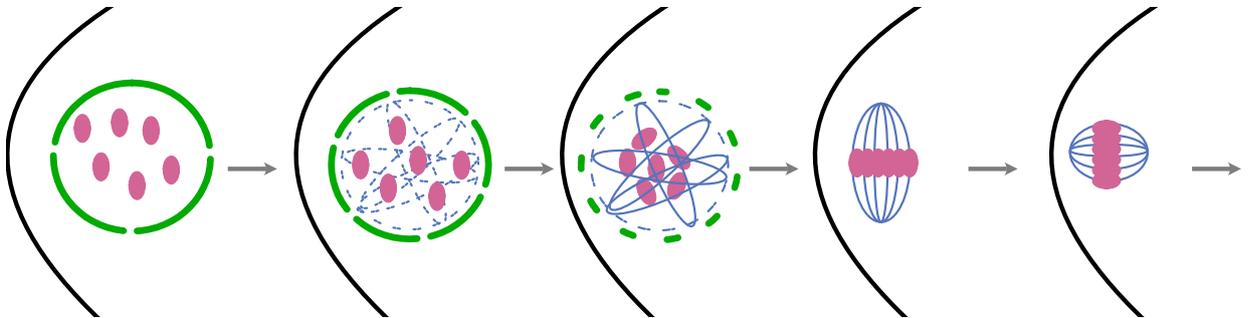
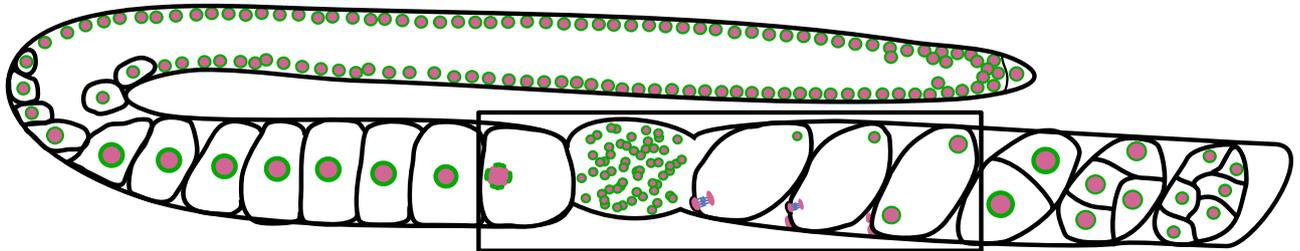
4. Formation des fuseaux méiotiques acentrosomaux

Dans la majorité des espèces, dont *C. elegans*, la méiose femelle est précédée par une phase précoce d'élimination des centrosomes dont les mécanismes moléculaires sont mal compris (Pimenta-Marques et al. 2016; Mikeladze-Dvali et al. 2012; Kolano et al. 2012). Les ovocytes sont donc acentrosomaux. Les centrosomes embryonnaires sont alors soit apportés par le spermatozoïde lors de la fécondation comme chez *C. elegans*, soit formés *de novo* dans l'embryon précoce comme chez la souris (Dumont et Desai 2012; Debec, Sullivan, et Bettencourt-Dias 2010). L'élimination des centrosomes dans les ovocytes permet d'éviter l'activation parthénogénétique de l'ovocyte et la formation de centrosomes surnuméraires dans les zygotes (Debec, Sullivan, et Bettencourt-Dias 2010; Manandhar, Schatten, et Sutovsky 2005).

En absence de centrosome, une alternative à la nucléation centrosomale est la nucléation dépendante de la chromatine. Les chromosomes sont alors acteurs de l'assemblage et de l'organisation des microtubules. Généralement, on distingue deux voies de nucléation dépendante de la chromatine : la voie Ran et la voie du complexe « Chromosome Passenger » (CPC, Chromosomal Passenger Complex). Dans les ovocytes de *C. elegans*, la nucléation des microtubules des fuseaux acentrosomaux est principalement dépendante de la voie du CPC (Radford et al. 2017 ; Severson, von Dassow, et Bowerman 2016; Chuang et al. 2020 ; Dumont et Desai 2012).

5. Assemblage et organisation du fuseau méiotique chez *C. elegans*

L'assemblage du fuseau acentrosomal dans l'ovocyte de *C. elegans* s'organise en plusieurs étapes principales (Figure I.12). La rupture de l'enveloppe nucléaire s'accompagne d'une accumulation de tubuline libre dans l'espace nucléaire en cours de rupture. Cette accumulation locale de tubuline conduit à la formation d'asters de microtubules interconnectés via des paquets (ou « bundles ») de microtubules. Ces derniers forment alors une « cage » de microtubules autour des chromosomes.



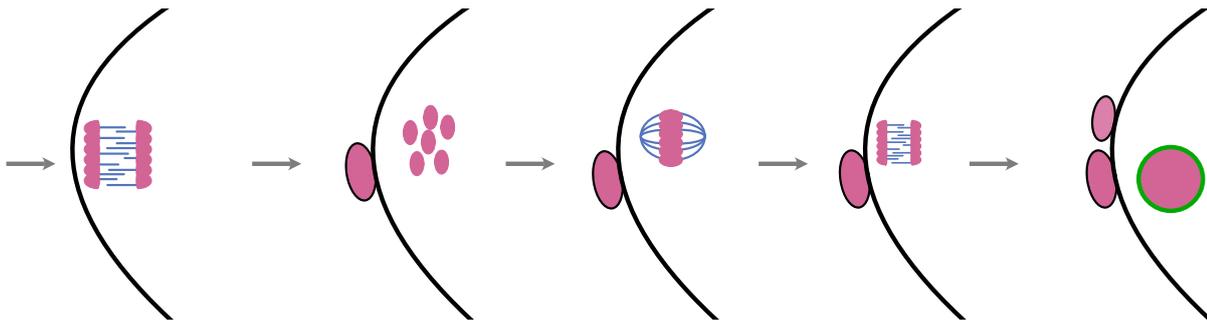
Rupture de l'enveloppe nucléaire
Accumulation de tubuline autour des chromosomes

Les microtubules forment une cage autour des chromosomes

Formation d'un fuseau multipolaire

Formation d'un fuseau bipolaire
Congression des chromosomes

Raccourcissement et rotation du fuseau



Organisation du fuseau central méiotique
Ségrégation des chromosomes homologues

Expulsion du premier globule polaire
Désassemblage du fuseau méiotique central

Organisation du fuseau de méiose II

Ségrégation des chromatides soeurs

Expulsion du deuxième globule polaire et formation du pronoyau maternel

Figure I. 12 Schéma de l'assemblage et de l'organisation du fuseau méiotique chez *C. elegans*.

Sous l'action des moteurs microtubulaires de la famille des protéines « kinesin-like » (KLP, Kinesin Like Protein) et de la dynéine, la cage microtubulaire forme progressivement un fuseau multipolaire, puis bipolaire. En parallèle, les chromosomes s'orientent et s'alignent au centre de ce fuseau afin de former une plaque métaphasique méiotique (Wolff et al. 2016; Gigant et al. 2017).

Avant l'entrée en anaphase I a lieu la rotation du fuseau qui positionne ce dernier perpendiculairement au cortex de l'ovocyte. Ce processus est dépendant de la dynéine recrutée par les protéines des pôles du fuseau LIN-5 (abnormal cell LINeage 5), ASPM-1 (Abnormal Spindle and Microcephaly 1) et CMD-1 (calmoduline) (van der Voet et al. 2009). La rotation du fuseau est essentielle au succès de la cytokinèse et donc à l'expulsion du premier globule polaire (Fabritius, Ellefson, et McNally 2011). Parallèlement, le fuseau se raccourcit sous l'effet de la protéine de coupure des microtubules katanine (K. McNally et al. 2006). A l'entrée en anaphase I, les pôles du fuseau ont quasiment disparu. La dissolution de la cohésion entre les bras courts des chromosomes permet la ségrégation des chromosomes homologues. La séparation physique des chromosomes fait intervenir un mécanisme atypique de poussée par les microtubules du fuseau central d'anaphase qui s'assemblent entre les chromosomes en cours de ségrégation (Laband et al. 2017). L'anaphase I se conclut par l'expulsion du premier globule polaire et le désassemblage du fuseau central méiotique. En méiose II, le lot de chromosomes restant dans l'ovocyte s'aligne sur le fuseau acentrosomal de méiose II, avant la ségrégation des chromatides sœurs en anaphase II, et l'expulsion du deuxième globule polaire. Le pronoyau maternel ainsi formé au pôle antérieur du zygote migre vers le pronoyau mâle situé au pôle postérieur et resté inactif depuis la fécondation. Après leur rencontre au pôle postérieur du zygote, les deux pronoyaux migrent vers le centre du zygote au cours de la phase S zygotique durant laquelle l'unique centrosome apporté par le spermatozoïde se duplique. La première division mitotique embryonnaire se déroule alors.

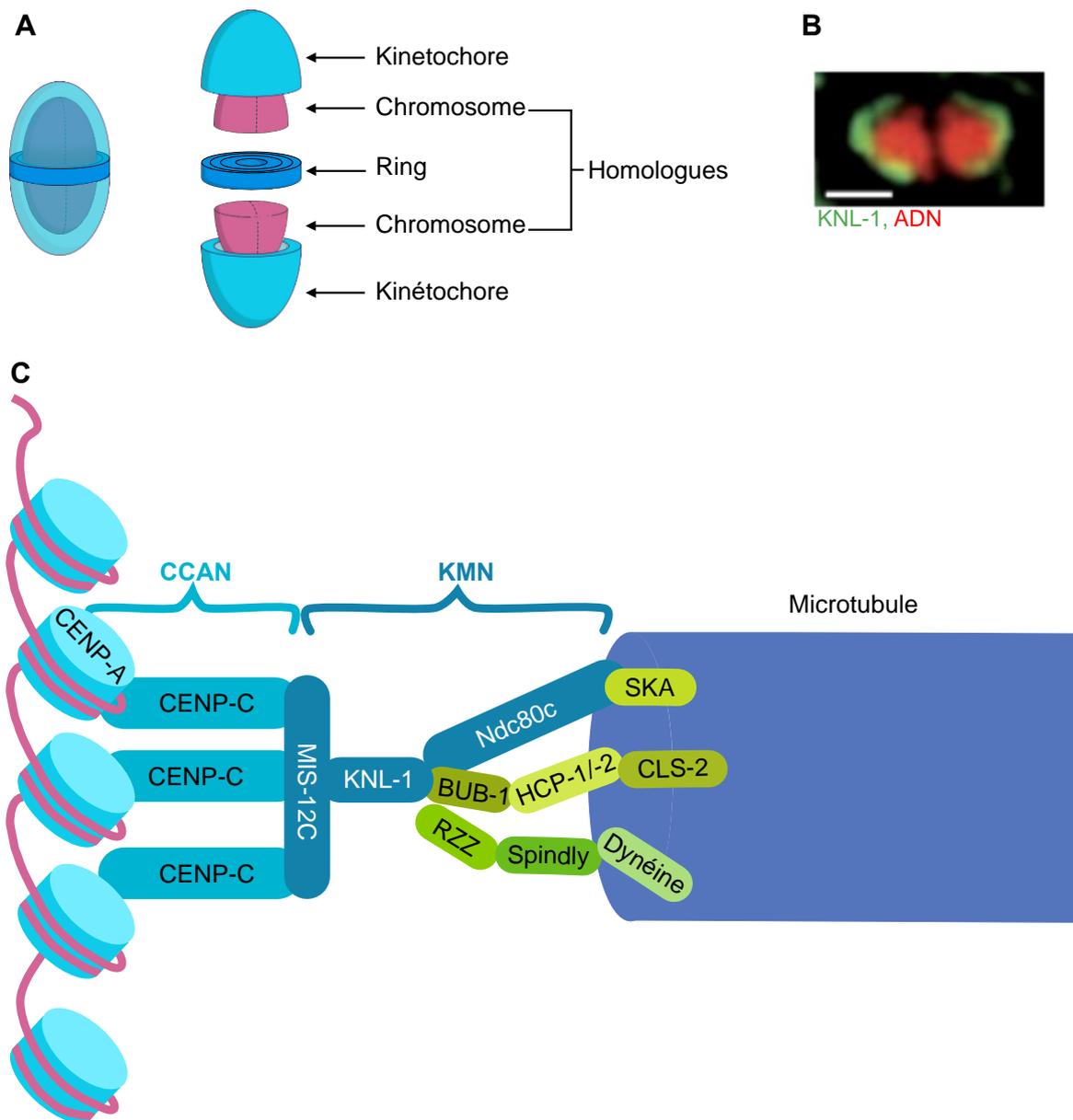


Figure I. 13 : (A) Schéma de l'organisation des kinétochores dans l'ovocyte de *C. elegans*. Adapté de Macaisne et al., 2022. (B) Image montrant la localisation de la protéine KNL-1 en forme de tasse dans l'ovocyte de *C. elegans* (Dumont et al., 2010). (C) Schéma de l'organisation des kinétochores chez *C. elegans*.

6. Spécificité des kinétochores dans l'ovocyte de *C. elegans*

Chez *C. elegans*, la protéine HCP-4^{CENP-C} est la seule représentante du CCAN formant le kinétochore interne. En mitose comme en méiose, elle est recrutée en aval du variant d'histone H3 centromérique HCP-3^{CENP-A} (Figure I.13). Dans les ovocytes, elle est présente sur l'ensemble du volume des chromosomes où elle se colocalise avec HCP-3^{CENP-A}. Les protéines du kinétochore externe se localisent au niveau de la surface externe de chaque chromosome homologue ou de chaque chromatide sœur, en méiose I et II respectivement, pour former deux structures en forme de « tasse ». Entre les chromosomes homologues ou les chromatides sœurs, au niveau du bras court, une structure en anneau (ring domain) concentre des protéines impliquées dans la ségrégation des chromosomes ou dans la dissolution des cohésines, comme les protéines du CPC (Monen et al. 2005; Dumont, Oegema, et Desai 2010) .

Comme en mitose, la localisation de HCP-4^{CENP-C} dépend de HCP-3^{CENP-A} en méiose. Les protéines du kinétochore externe ne dépendent par contre pas exclusivement de HCP-4^{CENP-C} et HCP-3^{CENP-A}, mais également de la protéine MEL-28^{ELYS} (Monen et al. 2005; Hattersley et al. 2022). MEL-28^{ELYS} est une protéine des pores nucléaires (nucléoporine) qui fait partie du sous-complexe « Y » (Y complex, détaillé dans le chapitre V). Comme toutes les nucléoporines de ce sous-complexe, MEL-28^{ELYS} se localise au niveau des kinétochores (Belgareh et al. 2001; Fernandez and Piano 2006; Galy et al. 2006). L'extrémité C-terminale de MEL-28^{ELYS} permet sa liaison à la chromatine et le recrutement des protéines du kinétochore externe indépendamment de HCP-3^{CENP-A} (Hattersley et al. 2022). En plus de participer au recrutement des protéines du kinétochores externes, MEL-28^{ELYS} assure le désassemblage des kinétochores en anaphase I grâce au recrutement de la phosphatase PP1. Le désassemblage des kinétochores via MEL-28^{ELYS} et PP1 est crucial pour la ségrégation correcte des chromosomes en anaphase I (Hattersley et al. 2016). Les protéines du kinétochore externe sont importantes pour l'orientation des chromosomes avant l'entrée en anaphase et pour la ségrégation fidèle des chromosomes, mais pas pour leur séparation physique (Dumont, Oegema, et Desai 2010).

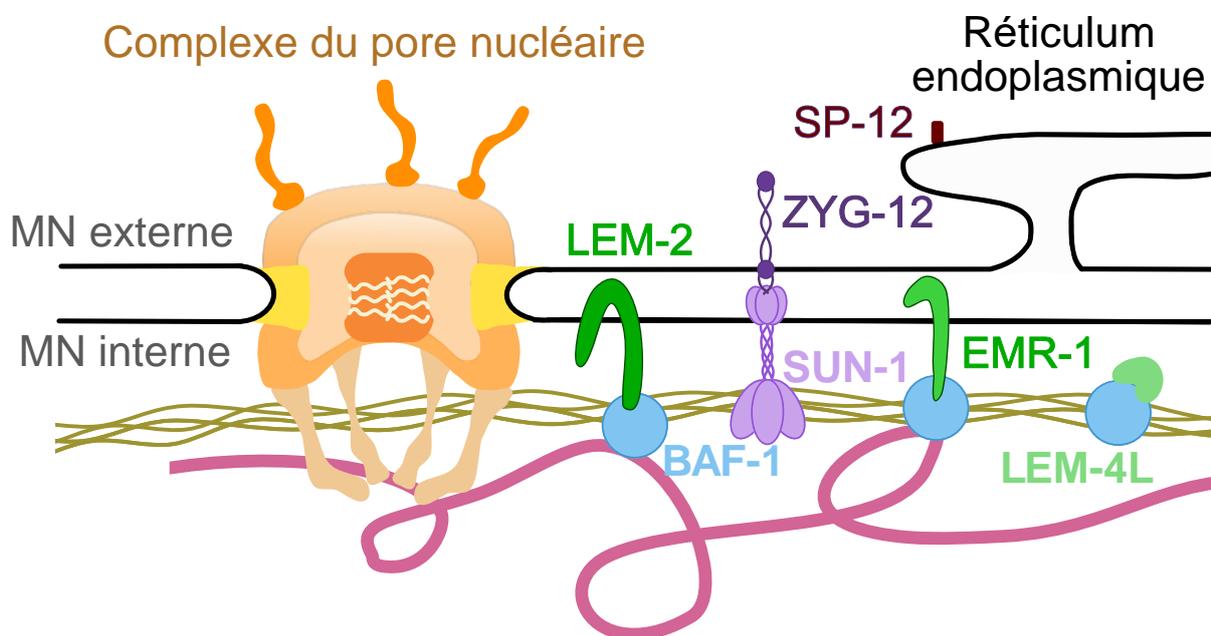


Figure I. 14 Schéma représentant l'organisation de l'enveloppe nucléaire chez *C. elegans*

V. L'enveloppe nucléaire

Chez les eucaryotes, l'ADN nucléaire est contenu au sein d'un compartiment cellulaire spécifique : le noyau. Le noyau sépare le nucléoplasme du cytoplasme et est délimité par l'enveloppe nucléaire. L'enveloppe nucléaire correspond à la superposition de deux membranes concentriques. Les deux membranes nucléaires (MN) sont séparées par l'espace périnucléaire. Le rôle de l'enveloppe nucléaire est de limiter les contacts nucléo-cytoplasmiques afin de conserver et protéger l'ADN. Les échanges de matériel et d'informations entre les compartiments nucléo et cytoplasmiques ont lieu majoritairement via les pores nucléaires et via le complexe LINC (Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton) (Figure I.14).

1. Composition de l'enveloppe nucléaire

L'enveloppe nucléaire est composée de la MN interne, de la MN externe et de l'espace périnucléaire. La MN externe et l'espace périnucléaire sont en continuité avec le réticulum endoplasmique rugueux (RER). Les MN internes et externes fusionnent par endroit pour former des pores qui sont stabilisées par le complexe des pores nucléaires. Bien que les deux membranes se rejoignent au niveau des pores, leurs compositions sont très différentes. En effet, tandis que la MN externe partage la composition et la fonction du RER, la MN interne présente des protéines spécifiques qui se retrouvent à proximité de la chromatine. Ceci confère à la MN interne plusieurs rôles dans la dynamique de l'enveloppe nucléaire mais aussi dans le contrôle de la transcription, la réparation de l'ADN et la recombinaison méiotique (Taddei et Gasser 2012; Mekhail et Moazed 2010). Les protéines de la MN interne et la lamine (voir plus bas) forment un réseau appelé lamine périphérique.

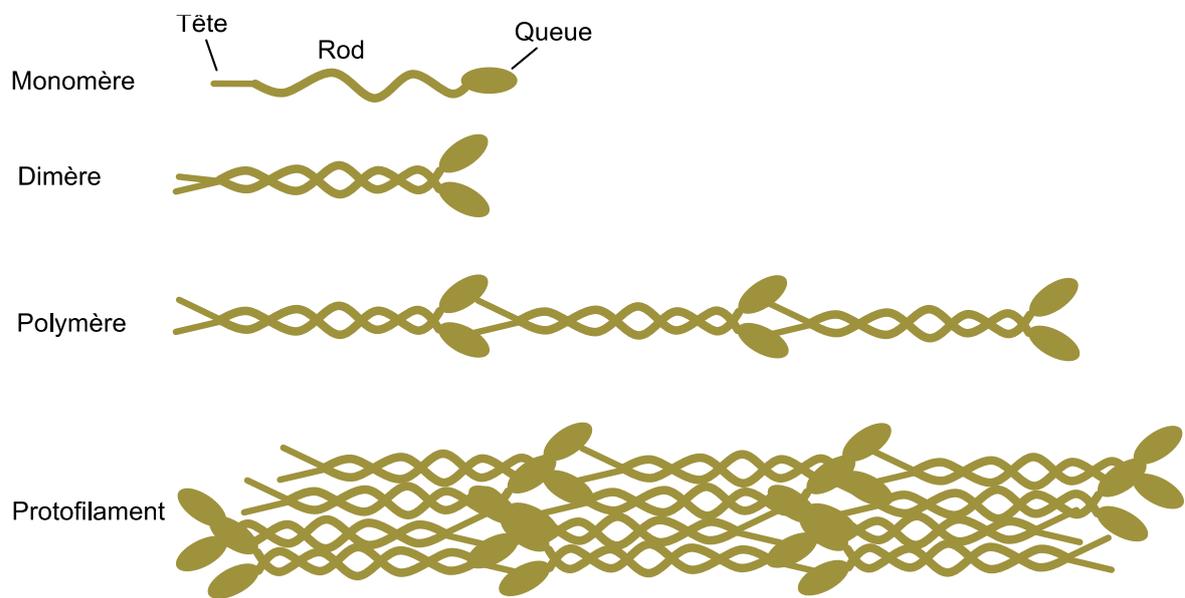


Figure I. 15 Schéma représentant l'organisation et la structure de la lamine.

1. 1. La lamine périphérique

1. 1. 1. La lamine

La lamine, aussi appelée nucléosquelette ou matrice nucléaire, est un réseau de filaments intermédiaires de type V associé à la MN interne. Chaque filament de lamine est composé de 3 domaines structuraux : la « tête » à l'extrémité N-terminale, la « queue » à l'extrémité C-terminale et au centre un domaine en hélice « rod domain » (Stuurman, Heins, et Aebi 1998) (Figure I.15). Les lamines forment des homodimères qui se polymérisent tête à queue (head to tail). Ces polymères s'assemblent ensuite pour former des protofilaments d'environ 3,5 nm de diamètre (Turgay et al. 2017).

La lamine est présente dans la majorité des métazoaires. Elle est absente chez les plantes et les eucaryotes unicellulaires. Elle est nécessaire à la structure, l'assemblage et la stabilité du noyau. Elle médie également les attachements entre les différents composants du noyau. Chez les mammifères, il existe deux types de lamine : les lamine de type A et les lamines de type B.

Les lamines de type A ne sont pas essentielles. Les composants majeurs des lamines de type A sont la lamine A et la lamine C. Ces deux lamines ont été classées séparément avant qu'on ne les identifie comme deux produits d'épissage alternatif du même gène LMNA (F. Lin et Worman 1993). Il existe d'ailleurs d'autres isoformes comme les lamines A Δ 10 et C2. Tandis que la lamine A et la lamine C sont exprimées dans toutes les cellules, la lamine C2 n'est exprimée que dans la gonade mâle et la lamine A Δ 10 dans les cellules somatiques. (Gruenbaum et Foisner 2015).

Les lamines de type B sont essentielles à la viabilité cellulaire. Elles sont exprimées dans toutes les cellules. On distingue deux types de lamine B : la lamine B1 et la lamine B2 qui sont des produits de deux gènes différents (LMNB1 et LMNB2). Chez l'humain, les mutations ou défauts d'expression de lamines sont des causes de cancer mais aussi de maladies rares appelées laminopathies (Evangelisti et al. 2022; Stiekema et al. 2020).

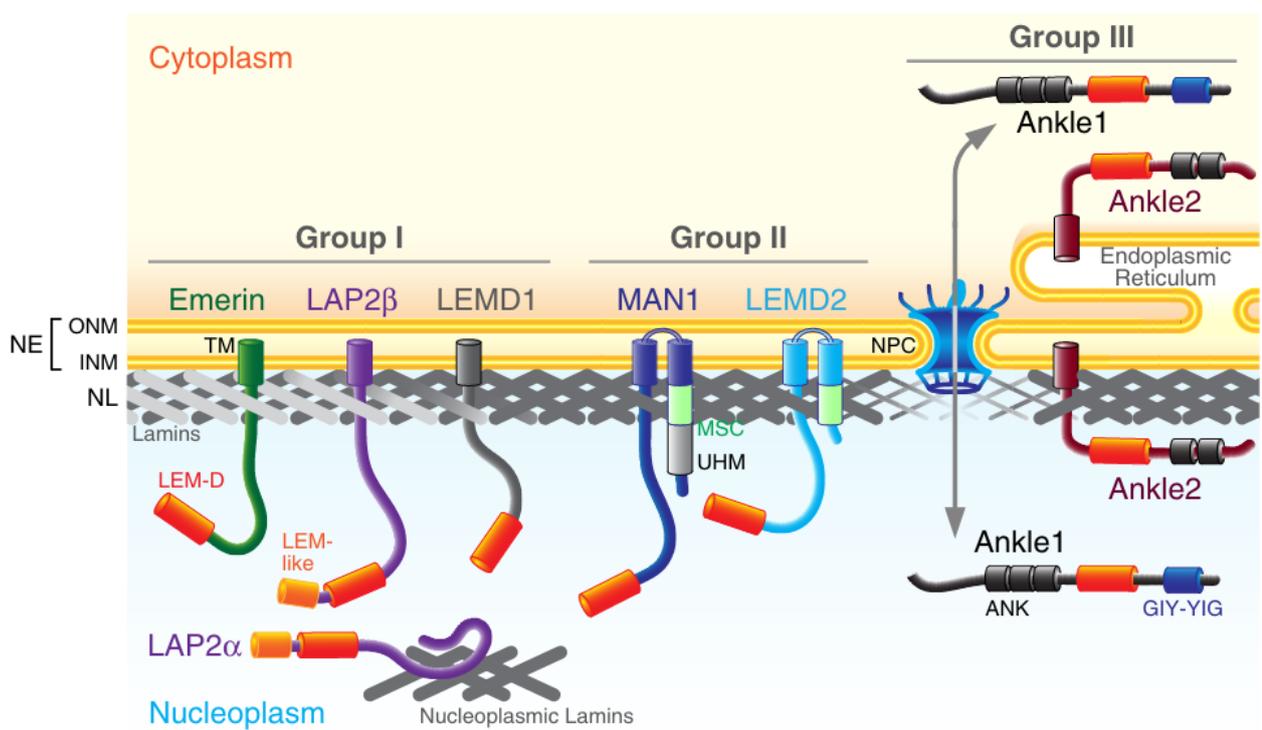
Chez *C. elegans* et comme dans la majorité des invertébrés, il existe une seule lamine (LMN-1) (Liu et al. 2000). C'est une lamine de type B qui joue plusieurs rôles dans la structure

nucléaire (K. K. Lee et al. 2000), la régulation du cycle cellulaire et l'organisation de la chromatine (J. Liu et al. 2000; K. K. Lee et al. 2000; Cohen et al. 2002). LMN-1 est également importante pour la localisation à l'enveloppe nucléaire des protéines de la MN interne, dont le « facteur barrière à l'auto-intégration » BAF-1^{BAF} et les protéines à domaine LEM (LAP2, Emerin et MAN1) (Jun Liu et al. 2003).

1. 1. 2. BAF

Le lien entre la chromatine et les protéines de la MN interne se fait majoritairement via la protéine BAF chez les mammifères ou BAF-1 chez *C. elegans*. C'est une petite protéine dont la séquence est très conservée. BAF se localise dans le cytoplasme, dans le nucléoplasme et présente un enrichissement à l'enveloppe nucléaire. BAF forme des homodimères stables qui lient l'ADN, préférentiellement double brin et indépendamment de la séquence. Ceci explique les différents rôles qu'elle joue dans la cellule. Initialement, BAF a été décrite comme protéine provirale qui promeut l'intégration des rétrovirus dans la cellule (M. S. Lee et Craigie 1998). Mais BAF a aussi des fonctions antivirales. Elle peut, en effet, empêcher la réplication et la transcription d'ADN viraux cytosoliques. En plus de ces rôles dans la réponse immunitaire, BAF régule la transcription, les modifications d'histones, la réparation des dommages de l'ADN, la réparation des dommages de l'enveloppe nucléaire, ainsi que la rupture et la reformation de l'enveloppe nucléaire en mitose (Sears et Roux 2020; Halfmann et Roux 2021). Chez l'humain, des mutations ou des défauts d'expression de BAF sont associés à des cancers et à des maladies rares comme le syndrome de la progéria de Nestor-Guillermo (Sears et Roux 2020).

Afin d'assurer toutes ces fonctions, la protéine BAF est sujette à plusieurs modifications post-traductionnelles. Dans les cellules en culture, la SUMOylation de BAF est importante pour sa rétention dans le noyau via la régulation de son attachement à la lamine A/C. Cette SUMOylation joue également un rôle dans la réplication de l'ADN (Q. Lin et al. 2020). La phosphorylation de BAF diminue son affinité pour la chromatine, tandis que sa déphosphorylation la promeut.



Current Opinion in Cell Biology

Figure I. 16 Schéma détaillant les localisations et les domaines structuraux des protéines à domaine LEM humaines (Barton et al., 2015)

En plus de réguler la localisation nucléaire de BAF, sa phosphorylation est aussi importante lors de la rupture, de la reformation et pour la réparation de l'enveloppe nucléaire. Elle joue également un rôle dans la réparation des dommages à l'ADN (Molitor et Traktman 2014; 2014; Gorjánácz et al. 2007 ; Asencio et al. 2012 ; Gorjánácz 2013). Le rôle précis de BAF dans la rupture et la reformation de l'enveloppe nucléaire sera abordé dans le chapitre V.2.

Les différentes fonctions de BAF nécessitent également son interaction avec de nombreuses protéines. L'interactome de BAF révèle en effet plus de 70 partenaires protéiques différents (Montes de Oca et al. 2009). Chez *C. elegans*, l'interaction de BAF-1 avec la lamine et les protéines à domaine LEM garantit sa localisation à l'enveloppe nucléaire (Jun Liu et al. 2003).

1. 1. 3. Les protéines à domaine LEM

Les protéines à domaine LEM se lient à BAF via ce même domaine. Elles se répartissent en trois groupes (Figure I.16) :

Le groupe I inclut les protéines dont le domaine LEM se situe à l'extrémité N-terminale. Elles ont un large domaine nucléoplasmique et un seul domaine transmembranaire. Chez l'humain, ce groupe comprend l'émerine, LEMD1 et LAP2. LAP2 existe sous plusieurs isoformes ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$, et ξ) et contient un second domaine « LEM-like » qui lui permet de se lier à l'ADN directement (Cai et al. 2001). Chez *C. elegans*, EMR-1 est la seule protéine du groupe I (K. K. Lee et al. 2000; Foisner et Gerace 1993; Berk, Tiffit, et Wilson 2013).

Le groupe II inclut des protéines dont le domaine LEM est également situé à l'extrémité N-terminale. Contrairement aux protéines du groupe I, elles possèdent deux domaines transmembranaires, ainsi qu'un domaine « winged helix » à l'extrémité C-terminale qui peut directement lier l'ADN *in vitro* (Caputo et al. 2006). Chez l'humain, ce groupe comprend MAN1 et LEMD2, tandis que chez *C. elegans*, il ne comprend que LEM-2 (appelée également MAN-1) (Brachner et al. 2005; K. K. Lee et al. 2000).

Enfin, le groupe III inclut les protéines qui ont un domaine LEM interne et deux répétitions ankyrine. Chez l'humain, ce groupe comprend LEM3 et LEM4 qui ne se localisent pas à l'enveloppe nucléaire.

En effet, LEM3 est dépourvue de domaine transmembranaire et circule entre le nucléoplasme et le cytoplasme, tandis que LEM4 a un domaine transmembranaire et se localise au niveau du RER. Chez *C. elegans*, le groupe III est représenté par LEM-3 et LEM-4L (LEM-4Like) qui ne possède pas de domaine LEM. LEM-3 et LEM-4L sont dépourvues de domaines transmembranaires. Tandis que LEM-3 ne présente pas de localisation nucléaire, LEM-4L se localise à l'enveloppe nucléaire (Dittrich et al. 2012; Asencio et al. 2012).

Les protéines à domaine LEM jouent plusieurs rôles cruciaux dont l'organisation de la chromatine et la régulation de la transcription (Mirza et al. 2021). Bien que leurs fonctions ne soient pas identiques et qu'elles ne soient pas enrichies de la même manière dans tous les tissus, les protéines à domaine LEM de différents groupes peuvent avoir des fonctions redondantes. C'est le cas, par exemple, de LEM-2 et EMR-1 chez *C. elegans*. La perte de LEM-2 ou EMR-1 a peu d'effets sur la viabilité embryonnaire, tandis que leur codéplétion conduit à une létalité embryonnaire totale. Ceci est dû à leur fonction redondante dans l'organisation de la chromatine (Jun Liu et al. 2003; Barkan et al. 2012; González-Aguilera et al. 2014; Morales-Martínez, Dobrzynska, et Askjaer 2015).

Chez *C. elegans*, LEM-2 et EMR-1 interagissent avec BAF-1 et LMN-1 qui sont toutes les deux essentielles à leur localisation à la MN interne (Jun Liu et al. 2003; Gorjánác et al. 2007). LEM-2 et EMR-1 sont présentes à l'enveloppe nucléaire de toutes les cellules. Cependant, EMR-1 est généralement plus abondante que LEM-2, sauf dans les cellules de la lignée germinale, les embryons et les cellules intestinales (Morales-Martínez, Dobrzynska, et Askjaer 2015).

1. 1. 4. Le complexe LINC

En plus de BAF et des protéines à domaine LEM, d'autres protéines sont associées à la lamine. Il s'agit notamment des protéines à domaine SUN. Ces protéines font partie des complexes LINC qui relient « mécaniquement » le nucléosquelette et le cytosquelette (Figure I.17).

Chaque complexe LINC correspond à l'association de deux trimères de protéines, un qui se localise à la MN interne, et l'autre à la MN externe.

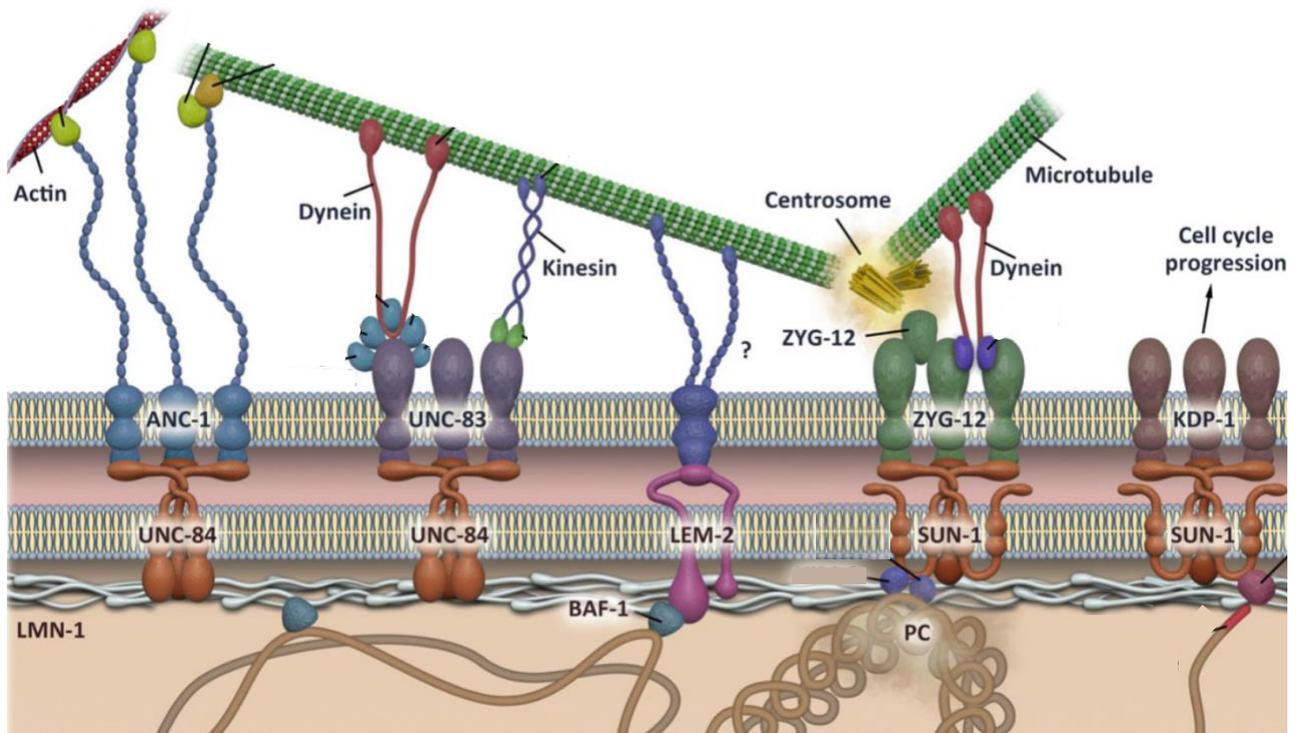


Figure I. 17 : Schéma des différents complexes LINC chez *C. elegans* et les composants du cytosquelette auxquels ils s'associent. Modifié de Cohen-Fix et Askjaer, 2017.

Les protéines des complexes LINC de la MN interne sont associées à la lamine et contiennent un domaine SUN (Sad1 et UNC-84) qui se localise au niveau de l'espace périnucléaire. Les protéines à domaine SUN recrutent, via ce même domaine, les protéines à domaines KASH (Klarsicht, ANC-1, Syne Homology) qui sont associées à la MN externe. Les protéines à domaine KASH peuvent lier l'actine, les microtubules, les centrosomes ou les filaments intermédiaires (Hao et Starr 2019). Il existe plusieurs protéines à domaine SUN et KASH, permettant différentes combinaisons de complexes LINC aux rôles différents, dont la régulation de l'espacement entre les MN interne et externe, le contrôle de la taille du noyau ou le positionnement des pores nucléaires (Crisp et al. 2006; Q. Liu et al. 2007; Wilson et Foisner 2010). Le complexe LINC joue également un rôle dans la propagation de l'information mécanique de la surface cellulaire au noyau, connu sous le nom de mécano-transduction nucléaire (Khilan, Al-Maslmani, et Horn 2021).

Chez *C. elegans*, il existe deux protéines à domaine SUN, UNC-84 qui est exprimée dans toutes les cellules, et SUN-1 (appelée également matefin) propre aux cellules de la lignée germinale. Quatre protéines à domaine KASH ont été identifiées. ANC-1 qui s'associe directement à l'actine et aux microtubules. ZYG-12 et UNC-83 nécessitent la dynéine et les kinésines pour médier leur association avec les microtubules. ZYG-12 est aussi capable de lier directement les centrosomes. La quatrième protéine à domaine KASH chez *C. elegans* est KDP-1. Sa potentielle interaction avec le cytosquelette n'a pas fait l'objet d'étude. KDP-1 est cependant importante pour la progression des noyaux en méiose dans la gonade et pour la ségrégation correcte des chromosomes en mitose (McGee, Stagljar, et Starr 2009). Parmi les différents complexes LINC, celui formé de SUN-1 et ZYG-12 est crucial pour l'organisation de la lignée germinale, les mouvements des chromosomes en méiose I et leur appariement, mais aussi pour la migration des pronoyaux et l'attachement des centrosomes au pronoyau mâle dans le zygote (Starr 2019).

1. 1. 5. Le récepteur de la lamine B

Le récepteur de la lamine B (Lamin B Receptor, LBR) est une protéine de la MN interne. C'est la première protéine de la MN interne à avoir été identifiée (Worman et al. 1988). LBR contient 8 domaines transmembranaires, une tête et une queue nucléoplasmiques.

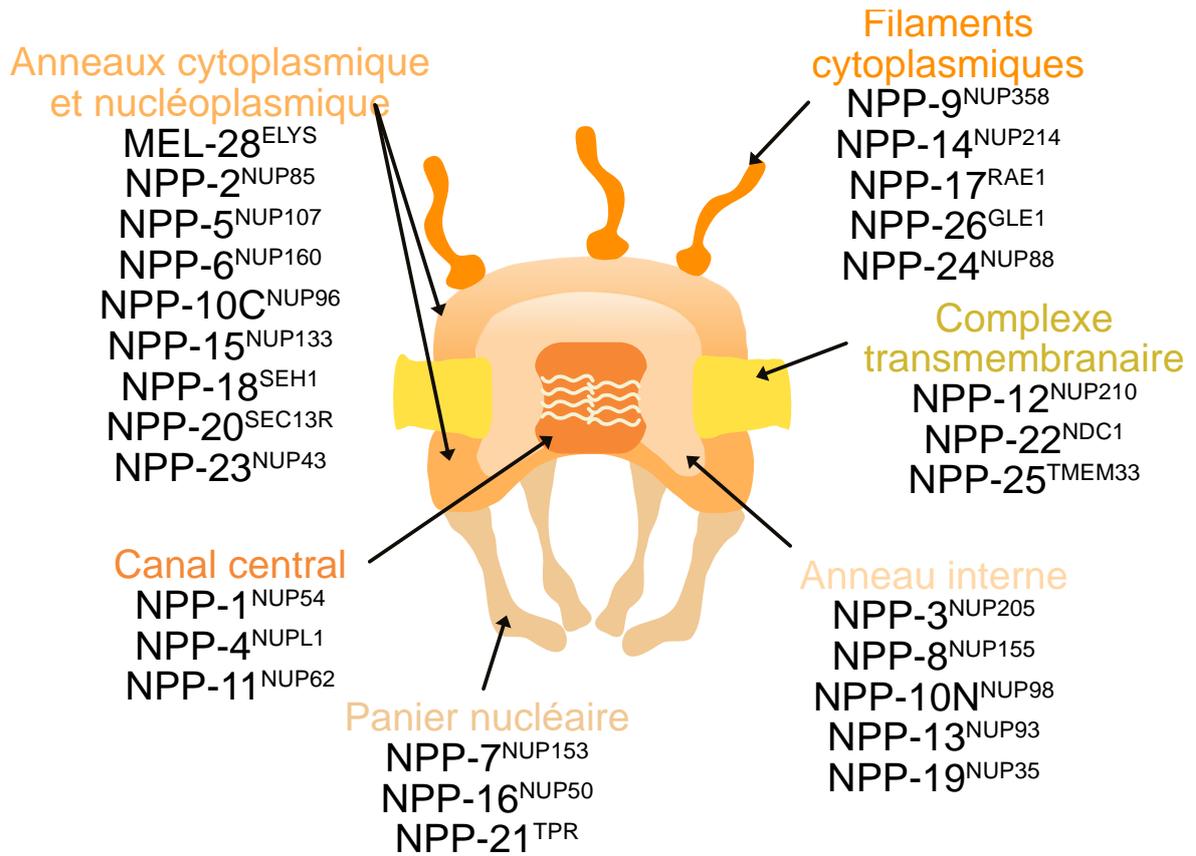


Figure I. 18 : Schéma simplifié représentant l'organisation du pore nucléaire chez *C. elegans*. Inspiré de Cohen-Fix et Askjaer, 2017

Elle est importante pour l'organisation de la chromatine et pour la production de cholestérol dans les cellules humaines en culture (Nikolakaki, Mylonis, et Giannakouros 2017).

LBR interagit avec plusieurs protéines de l'enveloppe nucléaire dont la lamine et les protéines à domaine LEM, émerine et LAP2. Elle peut également lier l'ADN, soit directement via son affinité pour l'ADN double brin, soit indirectement via la liaison de protéines histones (Olins et al. 2010; Pawar et Kutay 2021).

Chez *C. elegans*, aucun orthologue de la protéine LBR n'a été identifié (Cohen-Fix et Askjaer 2017).

1. 2. Le pore nucléaire

Le pore nucléaire est une structure macromoléculaire qui assure l'échange de matériel entre le nucléoplasme et le cytoplasme. C'est un complexe multiprotéique composé d'une trentaine de nucléoporines présentes en plusieurs copies. Chez l'humain, il peut contenir jusqu'à 1000 nucléoporines. Le pore nucléaire permet la circulation sélective de certaines molécules entre le nucléoplasme et le cytoplasme, et participe également à l'organisation de la chromatine et de l'enveloppe nucléaire (Dultz et al. 2022).

1. 2. 1. Composition et organisation du pore nucléaire

Le pore nucléaire est un cylindre octamérique qui s'organise de manière symétrique autour de l'axe nucléocytoplasmique. Il se compose de 28 nucléoporines chez *C. elegans* qui s'organisent en 6 sous-complexes : les filaments cytoplasmiques, le complexe Y, le complexe transmembranaire, l'anneau interne, le canal central et le panier nucléaire (Cohen-Fix et Askjaer 2017) (Figure I. 18).

Selon leurs rôles, on peut séparer ces sous-complexes en 3 catégories : les nucléoporines structurales, les nucléoporines à répétitions FG et les nucléoporines transmembranaires.

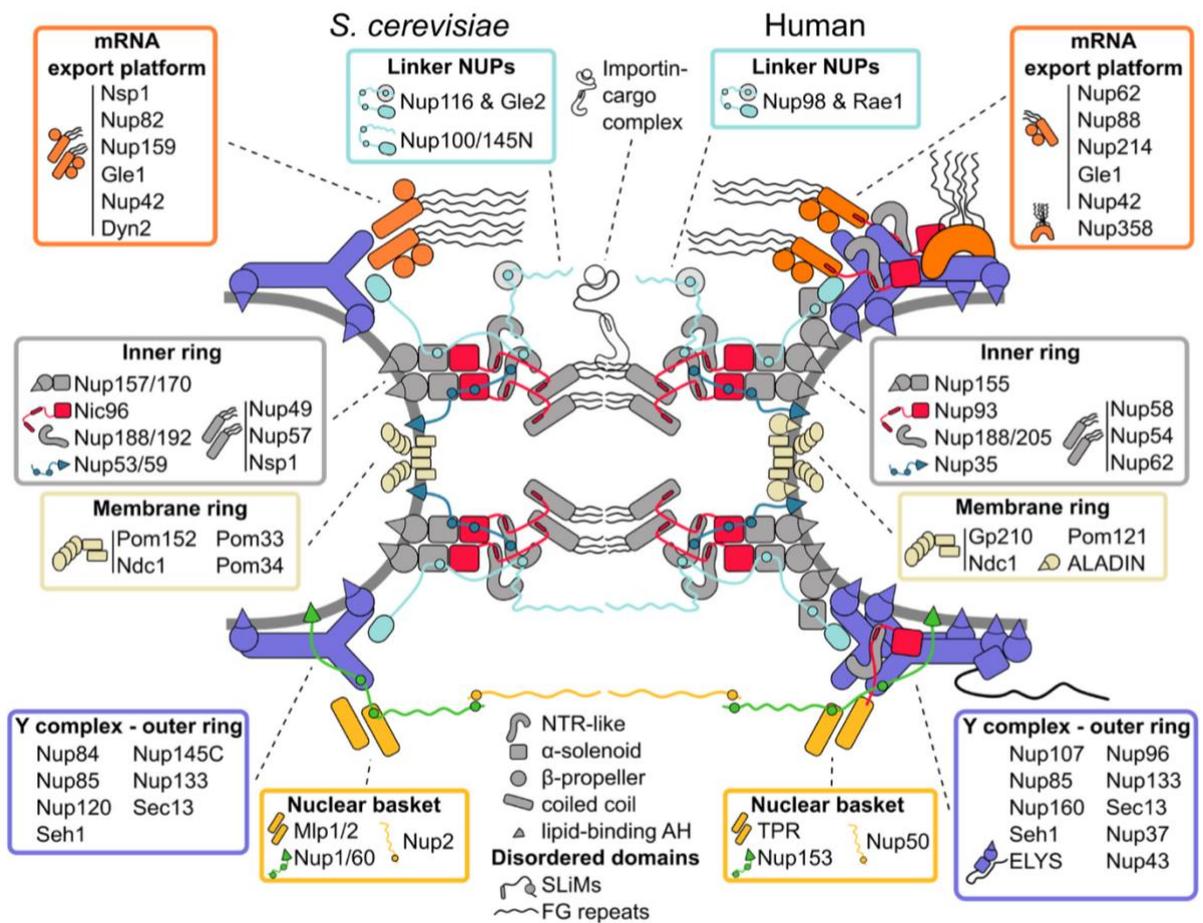


Figure I. 19 : Schéma représentant l'organisation des pores nucléaires chez l'être humain et la levure. De Dultz et al., 2022

1. 2. 1. a. Les nucléoporines structurales

Le cœur du pore nucléaire est composé de l'anneau interne et des anneaux cytoplasmique et nucléoplasmique. L'anneau cytoplasmique est associé aux filaments cytoplasmiques tandis que l'anneau nucléoplasmique est associé au panier nucléaire.

L'anneau interne

L'anneau interne se localise sur le même plan que l'enveloppe nucléaire. Il tapisse la partie interne du pore nucléaire. Son rôle principal est d'organiser le sous-complexe du canal central. Chez *C. elegans*, l'anneau interne est composé de NPP-3^{NUP205}, NPP-8^{NUP155}, NPP-10N^{NUP98}, NPP-13^{NUP93} et NPP-19^{NUP35}. Chez les vertébrés, il est également composé de NUP188, qui est un paralogue de NUP205^{NPP-3} (Figure I.19).

La partie la plus externe de l'anneau interne est composée de NUP155^{NPP-8} et NUP35^{NPP-19}. La couche centrale est composée des homologues NUP188 et NUP205^{NPP-3}, et de NUP93^{NPP-13} (Huang et al. 2022). NUP93^{NPP-13} forme un complexe avec NUP188 et un autre avec NUP205^{NPP-3}. Ces deux sous-complexes ne sont pas essentiels à la formation de l'enveloppe nucléaire. Néanmoins, le complexe NUP188-93 est important pour la régulation du transport des protéines du cytoplasme vers le noyau via le recrutement des protéines du canal central (Theerthagiri et al. 2010; Sachdev et al. 2012). La nucléoporine NUP98^{NPP-10N} recouvre les faces cytoplasmique et nucléoplasmique de l'anneau central. Elle assure le lien entre l'anneau interne et le complexe Y, afin de réguler le transport nucléo-cytoplasmique. Dans l'embryon de *C. elegans*, les localisations de NPP-19^{NUP35} et NPP-8^{NUP155} aux pores nucléaires sont dépendantes l'une de l'autre. Elles sont toutes les deux requises pour l'assemblage des pores nucléaires (Franz et al. 2005; Ródenas et al. 2009; Ferreira, Stear, et Saumweber 2017). Les nucléoporines NPP-3^{NUP205} et NPP-13^{NUP93} sont nécessaires à la distribution des pores nucléaires dans l'enveloppe nucléaire et pour le transport nucléo-cytoplasmique (Galy, Mattaj, et Askjaer 2003; Ródenas et al. 2009).

La fonction de NPP-10N^{NUP98} est plus compliquée à disséquer. En effet, NPP-10N^{NUP98} et NPP10C^{NUP96} du complexe Y sont deux produits de clivage de la pré-protéine NPP-10. NPP-10N/10C^{NUP96/98} sont importantes pour l'assemblage des pores nucléaires et le transport nucléocytoplasmique (Ródenas et al. 2012; Ferreira, Stear, et Saumweber 2017).

L'anneau interne est contenu entre deux anneaux, l'un cytoplasmique et l'autre nucléoplasmique.

Les anneaux nucléoplasmique et cytoplasmique

Les anneaux nucléoplasmique et cytoplasmique sont composés de l'association de plusieurs complexes Y, dont le nom provient de la forme adoptée par ce complexe (Lutzmann et al. 2002). Le complexe Y est composé de MEL-28^{ELYS}, NPP-2^{NUP85}, NPP-5^{NUP107}, NPP-6^{NUP160}, NPP-10C^{NUP96}, NPP-15^{NUP133}, NPP-18^{SEH1}, NPP-20^{SEC13R} et NPP-23^{NUP43}. MEL-28^{ELYS} se localise uniquement au niveau de l'anneau nucléoplasmique (von Appen et Beck 2016). Chez les vertébrés, NUP37, qui n'a pas d'orthologue chez *C. elegans*, en fait également partie. Hormis la localisation asymétrique de MEL-28^{ELYS}, l'organisation du complexe Y est la même au niveau nucléoplasmique et cytoplasmique. Dans les cellules humaines, le complexe Y se multimérise en 16 complexes par anneau, et donc en 32 complexes Y par pore nucléaire. (Bui et al. 2013; Holzer et Antonin 2019).

Le complexe Y interagit indirectement avec les membranes, via les protéines du complexe transmembranaire. Il pourrait aussi interagir directement via NUP133^{NPP-15} qui se localise à la base du complexe Y et via NUP160^{NPP-6} qui constitue une des deux branches du Y (Drin et al. 2007; Bui et al. 2013; von Appen et al. 2015; Petrovic et al. 2022). La seconde branche est composée de NUP85^{NPP-2}. Les deux branches se rejoignent là où se localisent SEC13^{NPP-20} et NUP96^{NPP-10C}. Puis NUP107^{NPP-5} lie NUP96^{NPP-10C} à NUP133. ELYS^{MEL-28}, quant à elle, se localise à l'extrémité de NUP133^{NPP-15}.

Un des rôles principaux du complexe Y est la formation des pores nucléaires en fin de mitose. Elle se fait via l'interaction de MEL-28^{ELYS} avec la chromatine. Cette association est très conservée évolutivement. En effet, la liaison de MEL-28^{ELYS} à la chromatine nécessite la présence de nucléosomes et dépend de son extrémité C-terminale (Inoue et Zhang 2014; Zierhut et al. 2014; Gómez-Saldivar et al. 2016; Sonnevile et al. 2015). Une fois liée à la chromatine, MEL-28^{ELYS} recrute le reste du complexe Y (Galy et al. 2006; Franz et al. 2007; Rasala et al. 2008). La déplétion de MEL-28^{ELYS} induit la formation d'une enveloppe nucléaire dépourvue de pores nucléaires (Galy et al. 2006; Franz et al. 2007; Rasala et al. 2008; Clever et al. 2012). Chez les vertébrés, la déplétion d'autres membres du complexe Y empêche la formation de pores nucléaires.

C'est le cas de NUP107^{NPP-5} dans les extraits d'embryons de xénope, et de NUP85^{NPP-2} ou NUP133^{NPP-15} dans les cellules HeLa (Walther et al. 2003; Harel et al. 2003). Ce n'est par contre pas le cas de NPP-5^{NUP107}, dont l'absence n'affecte pas la formation des pores nucléaires (Ródenas et al. 2012).

Les filaments cytoplasmiques

Ce sous-complexe inclut les nucléoporines qui se localisent préférentiellement au niveau de la face cytoplasmique du pore nucléaire. Ce sous-complexe forme 8 filaments composés de NPP-9^{NUP358}, NPP-14^{NUP214}, NPP-17^{RAE1}, NPP-24^{NUP88} et NPP-26^{GLE1}. Chez les vertébrés, NUP42 et Aladin, qui n'ont pas d'orthologues chez *C. elegans*, en font également partie.

Les filaments cytoplasmiques et le complexe Y interagissent via la liaison de NUP358^{NPP-9} (appelée aussi RANBP2) avec NUP133^{NPP-15} et NUP96^{NPP-10C}. Les filaments cytoplasmiques interagissent aussi avec l'anneau central via la liaison de GLE1^{NPP-26} avec NUP155^{NPP-8} (Bley et al. 2022; Petrovic et al. 2022). Les filaments cytoplasmiques sont importants pour le transport nucléo-cytoplasmique, l'export d'ARN messagers et la traduction (Cole et Scarcelli 2006; Alcázar-Román et al. 2006; Bley et al. 2022).

Chez *C. elegans*, NPP-24^{NUP88} nécessite NPP-14^{NUP214} pour sa localisation aux pores nucléaires (Thomas, Askjaer, et Seydoux 2022). Les fonctions canoniques des nucléoporines du complexe des filaments cytoplasmiques au pore nucléaire n'ont pas été étudiées chez *C. elegans*.

1. 2. 2. 4. Le panier nucléaire

Le panier nucléaire est composé de NPP-7^{NUP153}, NPP-16^{NUP50} et NPP-21^{TPR}. Il est associé au complexe Y via NUP153 (Enarson et al. 1998; Vasu et al. 2001). NUP153 recrute ensuite NUP50 et TPR (Translocated Promoter Region) (Hase et Cordes 2003; Walther et al. 2001). Le panier nucléaire est important pour le transport nucléo-cytoplasmique des ARNs et des protéines. Il participe à la réparation de l'ADN, à l'organisation de la chromatine et à la régulation de la transcription (Tingey et al. 2022).

NUP153^{NPP-7} est essentielle à la distribution des pores dans l'enveloppe nucléaire, via son interaction avec la lamine (Al-Haboubi et al. 2011; Lenz-Böhme et al. 1997; Kittisopikul et al. 2021).

NUP153^{NPP-7} possède un domaine membranaire via lequel elle peut recruter le complexe Y à l'enveloppe nucléaire lors de l'assemblage interphasique des pores nucléaires (voir V.1.3.2) (Vollmer et al. 2015). De récents travaux ont démontré que NUP153^{NPP-7} est aussi importante pour la reformation de l'enveloppe nucléaire en fin de mitose. Elle est requise pour l'intégrité de l'enveloppe nucléaire (Lajoie et al. 2022). Chez *C. elegans*, les nucléoporines du panier nucléaire n'ont pas fait l'objet d'études fonctionnelles.

1. 2. 1. b. Les nucléoporines à répétitions de FG

Cette catégorie inclut les nucléoporines qui sont riches en répétitions de phénylalanine-glycine (FG) et qui se localisent à l'intérieur du cœur du pore nucléaire. Elles sont membres du canal central et sont composées de NPP-1^{NUP54}, NPP-4^{NUP58} et NPP-11^{NUP62}. Elles sont essentielles au maintien de la perméabilité de la barrière hydrophobe du pore nucléaire, soit par diffusion passive, permettant la diffusion de macromolécules dont le poids moléculaire est inférieur à 40-60 kDa, ou par diffusion facilitée, nécessitant la liaison à des facteurs de transport nucléaire (Timney et al. 2016).

1. 2. 1. c. Les nucléoporines transmembranaires

La troisième catégorie comprend les nucléoporines qui permettent l'ancrage du pore nucléaire à l'enveloppe nucléaire. Il s'agit des nucléoporines du complexe transmembranaire NPP-22^{NDC1}, NPP-12^{NUP210/GP210} et NPP-25^{TMEM33}. Ce sous-complexe est également composé de POM121 (POre Membrane protein 121) chez les vertébrés. Les protéines de ce sous-complexe médient le lien entre le pore nucléaire et l'enveloppe nucléaire.

Chez les vertébrés, POM121 et NDC1^{NPP-22} (Nuclear Division Cycle 1) sont essentielles à la formation des pores nucléaires, ainsi qu'au recrutement et à la fusion des membranes (Antonin et al. 2005; Yavuz et al. 2010; Mansfeld et al. 2006). La déplétion de POM121 ou de NDC1^{NPP-22} inhibe la formation de l'enveloppe nucléaire et l'assemblage des pores nucléaires. Cette fonction ne semble pas être commune à toutes les protéines du complexe transmembranaire et n'est pas conservée dans toutes les espèces.

C'est le cas de NUP210^{NPP-12} dont la déplétion ne présente pas d'effets délétères et ne bloque pas la formation des pores nucléaires dans les extraits d'embryons de xénopes. NUP210^{NPP-12} y est requise pour la rupture de l'enveloppe nucléaire (Antonin et al. 2005; Galy et al. 2008). En revanche, dans les cellules HeLa, NUP210^{NPP-12} est nécessaire à l'espacement des pores nucléaires et à la fusion de l'enveloppe nucléaire (Cohen et al. 2003). Chez les vertébrés, TMEM33^{NPP-25} se localise à l'enveloppe nucléaire et au réticulum endoplasmique (Urade et al. 2014). Il n'y a à ce jour pas d'études menées sur sa fonction à l'enveloppe ou au pore nucléaire. L'orthologue de TMEM33^{NPP-25} chez *S. cerevisiae*, POM33, est essentiel à la régulation de la densité et de l'espacement des pores nucléaires.

Dans l'embryon de *C. elegans*, NPP-22^{NDC1} est nécessaire à la formation de pores nucléaires et participe au recrutement des protéines du complexe Y à l'enveloppe nucléaire (Mauro et al. 2022). NPP-12^{NUP210} intervient tardivement lors de la reformation de l'enveloppe nucléaire et est requise pour l'espacement des pores nucléaires et la fusion de l'enveloppe nucléaire (Cohen et al. 2003). NPP-12^{NUP210} régule également la localisation de la lamine. La déplétion de NPP-12^{NUP210} conduit à la persistance de la lamine. Ceci empêche la rupture des enveloppes nucléaires des pronoyaux mâle et femelle, et le mélange des lots de chromosomes parentaux, conduisant à la formation de noyaux « jumeaux » (Galy et al. 2008). *C. elegans* ne présente pas d'orthologue de POM121 et la nucléoporine NPP-25^{TMEM33}, récemment identifiée, n'a pas encore fait l'objet d'étude.

1. 2. 2. Rôles non-conventionnels des protéines des pores nucléaires

En plus de leurs fonctions canoniques dans le transport cyto-nucléoplasmique, les protéines des pores nucléaires jouent plusieurs rôles à divers stades de la mitose (Wozniak, Burke, et Doye 2010). Plusieurs nucléoporines de différents sous-complexes se localisent aux centrosomes. C'est le cas de NUP188 de l'anneau interne qui y est associée en interphase et en mitose. NUP188 est nécessaire à la duplication des centrioles et à l'alignement des chromosomes en mitose (Itoh et al. 2013; Vishnoi et al. 2020). NUP35^{NPP-19} de l'anneau interne s'associe aux microtubules dans l'ovocyte de souris. NUP35^{NPP-19} est essentielle à l'organisation du fuseau et à la régulation des attachements entre les microtubules et les kinétochores (Chen et al. 2018).

Les nucléoporines du canal central NUP58^{NPP-4} et NUP62^{NPP-11} se localisent également aux centrosomes en métaphase et en anaphase. Elles sont toutes les deux requises pour la bipolarisation du fuseau via des mécanismes différents. Tandis que la déplétion de NUP58^{NPP-4} induit la formation de fuseaux monopolaires, la déplétion de NUP62^{NPP-11} conduit à la formation de fuseaux multipolaires (Hashizume et al. 2013; Z. Wu et al. 2016; Hartono et al. 2019).

NUP62^{NPP-11} est également associée aux microtubules et est requise pour l'assemblage du fuseau via la régulation du positionnement des centrosomes et la nucléation des microtubules (Hashizume et al. 2013; Z. Wu et al. 2016). GLE1^{NPP-26}, nucléoporine des filaments cytoplasmiques, se localise au niveau des centrosomes et est requise pour l'organisation des centrosomes et des microtubules (Jao, Akef, et Wentz 2017). Les autres nucléoporines des filaments cytoplasmiques RNA Export Factor 1 (RAE1^{NPP-17}), NUP358^{NPP-9}, NUP88^{NPP-24} et NUP214^{NPP-14} sont essentielles à la bipolarisation du fuseau (Joseph et al. 2004; Wong, Blobel, et Coutavas 2006; Dawlaty et al. 2008; Hashizume et al. 2010). En mitose, les protéines du complexe Y s'associent aux kinétochores via la sous-unité SEH1^{NPP-18} (Belgareh et al. 2001; Harel et al. 2003; Galy et al. 2006; Loiodice et al. 2004). SEH1^{NPP-18} est aussi requise pour stabiliser les attachements entre les microtubules et les kinétochores (Zuccolo et al. 2007). ELYS^{MEL-28}, NUP160^{NPP-6} et NUP170^{NPP-5} sont également importantes pour l'assemblage du fuseau et la nucléation des microtubules dépendante de la voie Ran (Yokoyama et al. 2014; Mishra et al. 2010). Enfin, la sous-unité du panier nucléaire TPR^{NPP-21} est recrutée aux kinétochores par la dynéine en début d'anaphase et est nécessaire à la congression des chromosomes (Nakano et al. 2010; Rajanala et al. 2014) .

Dans l'embryon de *C. elegans*, NPP-1^{NUP54}, NPP-4^{NUP1}, NPP-11^{NUP62} du canal central et NPP-3^{NUP205} et NPP-13^{NUP93} de l'anneau interne sont importantes pour l'orientation du fuseau de division (Schetter et al. 2006). NPP-9^{NUP358} des filaments cytoplasmiques est requise pour l'organisation du fuseau et pour assurer les attachements entre les microtubules et les chromosomes (Gönczy et al. 2000; Askjaer et al. 2002). Le complexe Y chez *C. elegans*, est associé aux kinétochores en mitose et en méiose (Galy et al. 2006). NPP-5^{NUP107} du complexe Y participe à la localisation de la protéine HIM-10^{Nuf2} aux kinétochores et de la kinase AIR-2^{Aurkb} sur les chromosomes (Ródenas et al. 2012). Comme mentionné plus haut, en méiose chez *C. elegans*, MEL-28^{ELYS} contribue au désassemblage des kinétochores et garantit la ségrégation correcte des chromosomes via l'ancrage de la phosphatase PP1

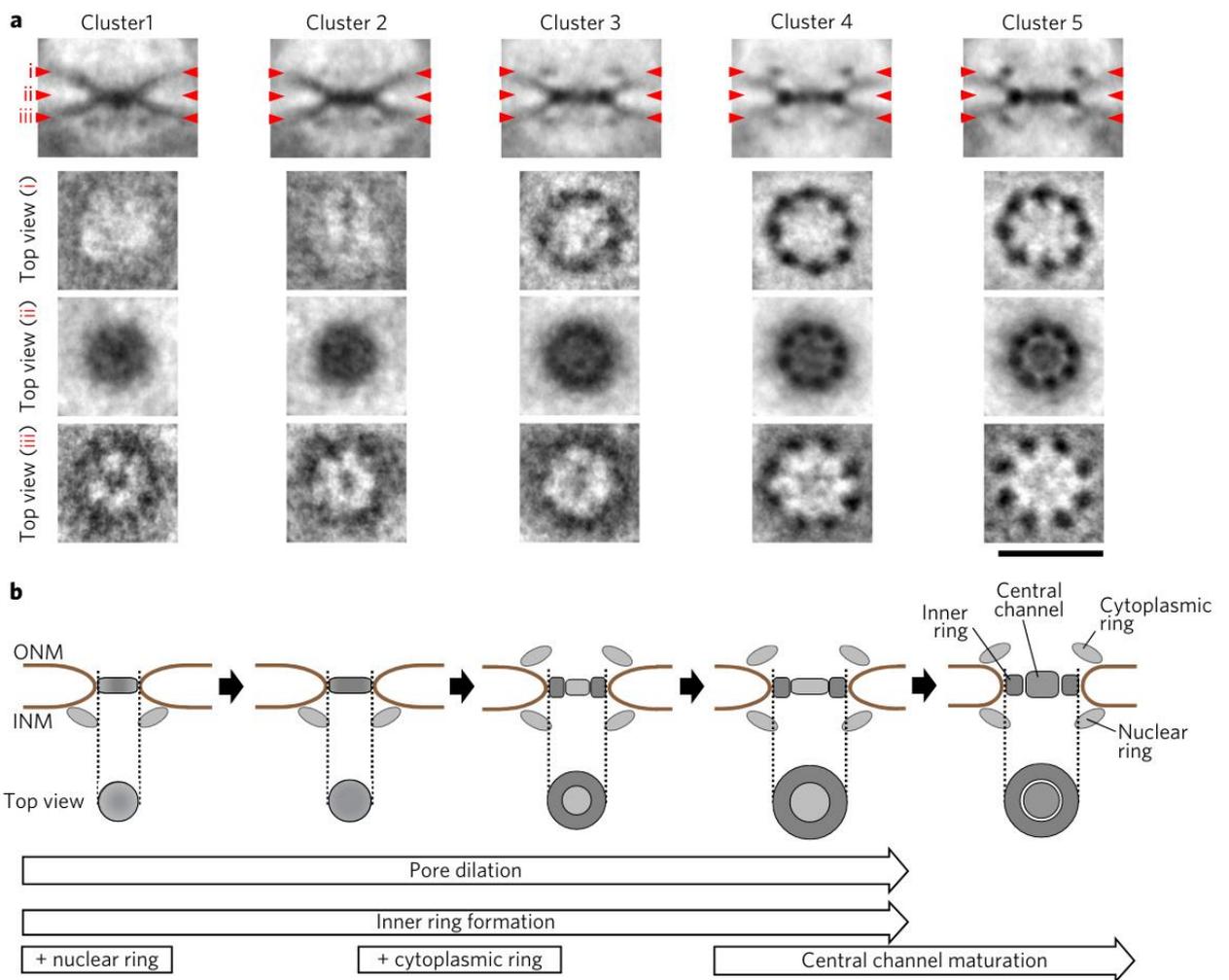


Figure I. 20 : (a) coupes de microscopie électronique par tomographie de pores à différentes étapes d'assemblage. (b) Schéma des étapes d'assemblage et de maturation des pores nucléaires. De Otsuka et al., 2018

(Hattersley et al. 2016). NPP-10N/-10C^{NUP96/98}, NPP-13^{NUP93} et NPP-20^{SEC13} des complexes Y et de l'anneau interne participent chacune au recrutement de HCP-4^{CENP-C} aux centromères en prophase (Ferreira, Stear, et Saumweber 2017).

1. 3. Assemblage du pore nucléaire en fin de mitose

On distingue deux modes d'assemblage des pores nucléaires : l'assemblage en fin de mitose et l'assemblage en interphase. L'assemblage du pore nucléaire en fin de mitose.

La mitose nécessite la rupture de l'enveloppe nucléaire et le désassemblage des pores nucléaires afin de permettre aux microtubules d'interagir avec les chromosomes. Les composants de l'enveloppe nucléaire et des pores nucléaires sont alors relocalisés dans le cytoplasme, au niveau des kinétochores ou dans le réticulum endoplasmique (Belgareh et al. 2001; Yang, Guan, et Gerace 1997; Daigle et al. 2001). C'est le cas du complexe Y qui se localise aux kinétochores en mitose (Galy et al. 2006; Belgareh et al. 2001; Franz et al. 2007). En fin d'anaphase, l'association de MEL-28^{ELYS} avec les chromosomes promeut l'assemblage des pores nucléaires. En effet, l'interaction de MEL-28^{ELYS} avec le complexe NUP107-160 forme une structure stable permettant de recruter d'autres nucléoporines (Figure I. 20). Le premier lien entre le pore en cours de formation et les membranes se fait via POM121 du complexe transmembranaire (Antonin et al. 2005; Yavuz et al. 2010). NDC1^{NPP-22}, du même complexe, contribue également à l'association entre le pore nucléaire et les membranes (Mansfeld et al. 2006). Ensuite, les nucléoporines de l'anneau interne sont successivement recrutées. NUP35^{NPP-19} est la première à s'associer aux pores en cours de formation, suivie par NUP155^{NPP-8} (Ródenas et al. 2009; Eisenhardt, Redolfi, et Antonin 2014). Ces deux protéines peuvent lier les membranes à la fois directement via leurs domaines membranaires, mais aussi indirectement via l'interaction avec les nucléoporines du complexe transmembranaire NDC1^{NPP-22} et POM121 (Vollmer et al. 2012; Mansfeld et al. 2006; Mitchell et al. 2010; Eisenhardt, Redolfi, et Antonin 2014). NUP93^{NPP-13}, NUP188 et NUP205^{NPP-3} sont ensuite recrutées (Sachdev et al. 2012). NUP93^{NPP-13} permet alors le recrutement des protéines du canal central (Sachdev et al. 2012). A ce stade, le pore nucléaire est perméable et associée aux membranes. Le recrutement des filaments cytoplasmiques et du panier nucléaire finalise la reformation du pore. La séquence précise de recrutement de ces sous complexes n'est cependant pas connue.

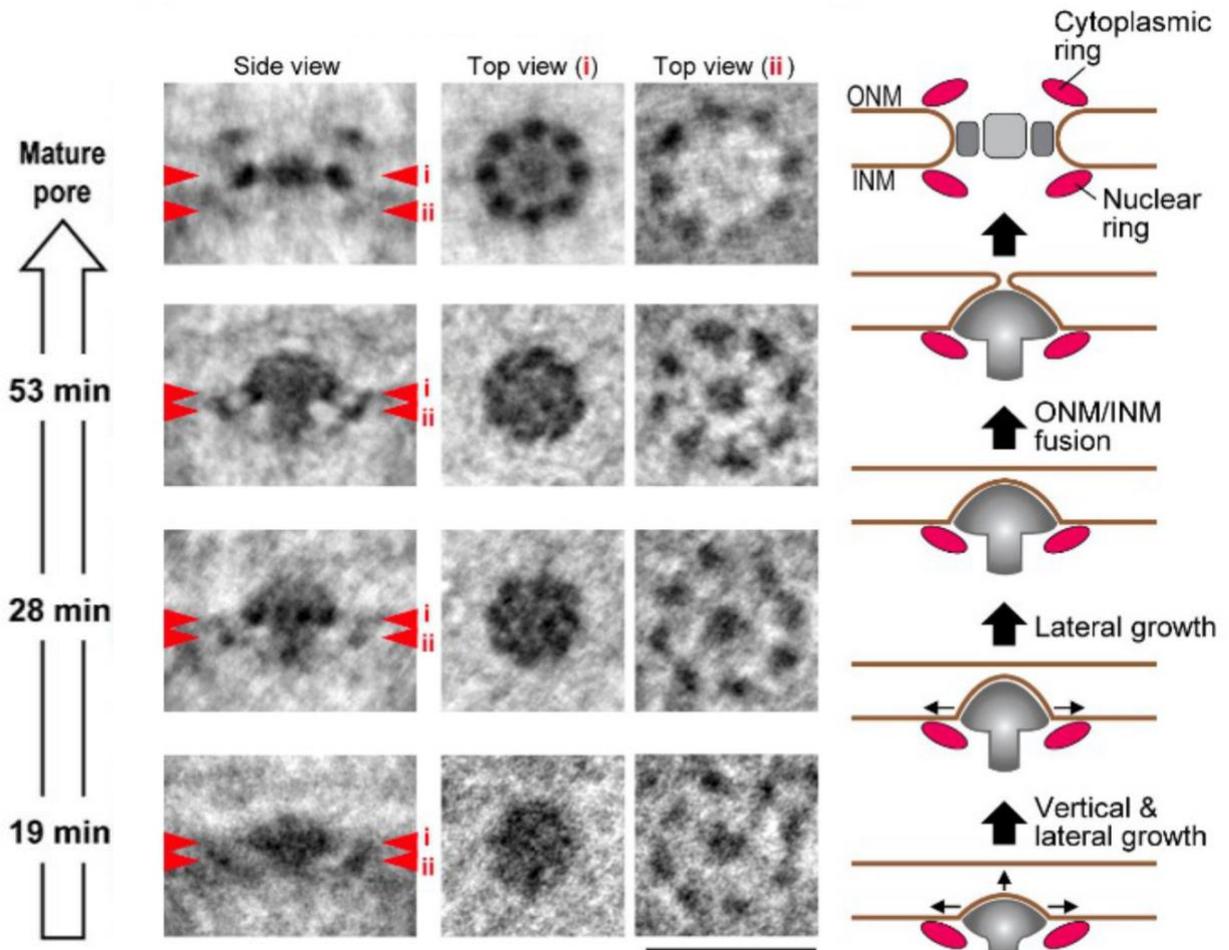


Figure I. 21 Coupes de microscopie électronique de pores à différents points de temps allant de l'assemblage à la maturation avec à droite le schéma du modèle d'assemblage des pores nucléaires en interphase. De Otsuka et al., 2016

Le recrutement du panier nucléaire nécessite la localisation de NUP153^{NPP-7} (Hase et Cordes 2003; Walther et al. 2001), tandis que NUP358^{NPP-9} est nécessaire au recrutement des filaments cytoplasmiques (Bley et al. 2022).

1. 4. L'assemblage du pore nucléaire en interphase

En télophase, l'enveloppe nucléaire est complètement scellée et la diffusion des molécules entre le cytoplasme et le nucléoplasme est restreinte aux pores nucléaires reformés en fin de mitose. La croissance des cellules, notamment durant les phases G1 et G2, nécessite une intense communication nucléocytoplasmique et la formation de nouveaux pores nucléaires (Otsuka et Ellenberg 2018). Il existe alors un deuxième mode d'assemblage des pores nucléaires en interphase. Contrairement à l'assemblage des pores nucléaires en fin de mitose qui dure un laps de temps très court, et qui dépend de l'association du complexe Y avec les chromosomes, l'assemblage en interphase est plus lent et est initié par des nucléoporines du complexe transmembranaire et d'autres protéines à domaine membranaire (Dultz et al. 2022). Cette lenteur peut s'expliquer par le fait que les pores nucléaires nécessitent d'être ancrés à une enveloppe déjà scellée. L'assemblage en interphase requiert donc un remodelage des membranes et la fusion de la membrane interne avec la membrane externe par un mécanisme de type « inside-out » (Otsuka et al. 2018; Peeters, Piët, et Fornerod 2022) (Figure I.21). En effet, les observations par microscopie électronique démontrent que ce mécanisme implique l'invagination de la MN interne vers la MN externe, accompagnée par l'organisation du complexe Y nucléoplasmique et par la présence d'un réseau dense de protéines (probablement composé de nucléoporines à domaine membranaire) organisé sous forme de « champignon ». Ceci permet la fusion des membranes interne et externe, et la relocalisation des sous-complexes du pore nucléaire (Otsuka et al. 2016). Plusieurs protéines sont impliquées, dont NUP35^{NPP-19} et NUP155^{NPP-8} qui présentent des domaines de déformation des membranes (Vollmer et al. 2012; Doucet, Talamas, et Hetzer 2010), ainsi que SUN1 et POM121 qui se localisent au niveau de la MN interne (Talamas et Hetzer 2011; Doucet, Talamas, et Hetzer 2010). NUP153^{NPP-7} interagit également avec la MN interne et y recrute le complexe Y (Vollmer et al. 2015; Mossaid et al. 2020).

L'ordre de recrutement de ces protéines n'est pas précisément établi, il a probablement lieu séquentiellement au site d'assemblage (Otsuka et al. 2016; Peeters, Piët, et Fornerod 2022; Bley et al. 2022). En effet, POM121 y est recrutée avant NUP107^{NPP-5}, tandis que NUP358^{NPP-9}, des filaments cytoplasmiques, n'est recrutée que plus tard (Dultz et Ellenberg 2010; Otsuka et al. 2016).

2. Dynamique de l'enveloppe nucléaire

La dynamique de l'enveloppe nucléaire dépend du cycle cellulaire. En effet, les composants de l'enveloppe nucléaire sont des cibles de plusieurs kinases et phosphatases mitotiques qui régulent leurs localisations et leurs interactions.

On distingue trois types de mitoses en fonction du statut de l'enveloppe nucléaire au cours de la division : la mitose ouverte, la mitose fermée et la mitose semi-ouverte.

La mitose ouverte concerne la plupart des métazoaires. Elle correspond à la rupture totale de l'enveloppe nucléaire permettant la translocation des protéines et des microtubules afin d'organiser la ségrégation des chromosomes (O'Day et Budniak 2015).

La mitose fermée a lieu chez plusieurs eucaryotes, dont les levures. L'enveloppe nucléaire ne se rompt pas autour des chromosomes. La tubuline et les protéines associées aux microtubules sont importées à l'intérieur du noyau pour organiser le fuseau de division intranucléaire. Chez *S. pombe*, un remodelage local a lieu en anaphase durant lequel les pores nucléaires se désassemblent et l'enveloppe nucléaire se rompt de manière localisée au niveau de la « midzone » afin de permettre la fission et la séparation physique des noyaux des deux cellules filles (Dey et al. 2020).

La mitose semi-ouverte concerne notamment les embryons précoces de *C. elegans*. Elle correspond à une rupture incomplète de l'enveloppe nucléaire. Des restes d'enveloppe nucléaire s'organisent autour du fuseau de microtubules. Ils sont composés de membranes contenant les protéines des MN interne et externe. Ces membranes fenestrées permettent la diffusion de protéines et l'organisation des microtubules. Elles empêchent en revanche la circulation de grandes organelles afin d'éviter qu'elles n'interfèrent avec la ségrégation correcte des chromosomes (K. K. Lee et al. 2000; Schweizer et al. 2015; Cohen-Fix et Askjaer 2017; Schlaitz et al. 2013).

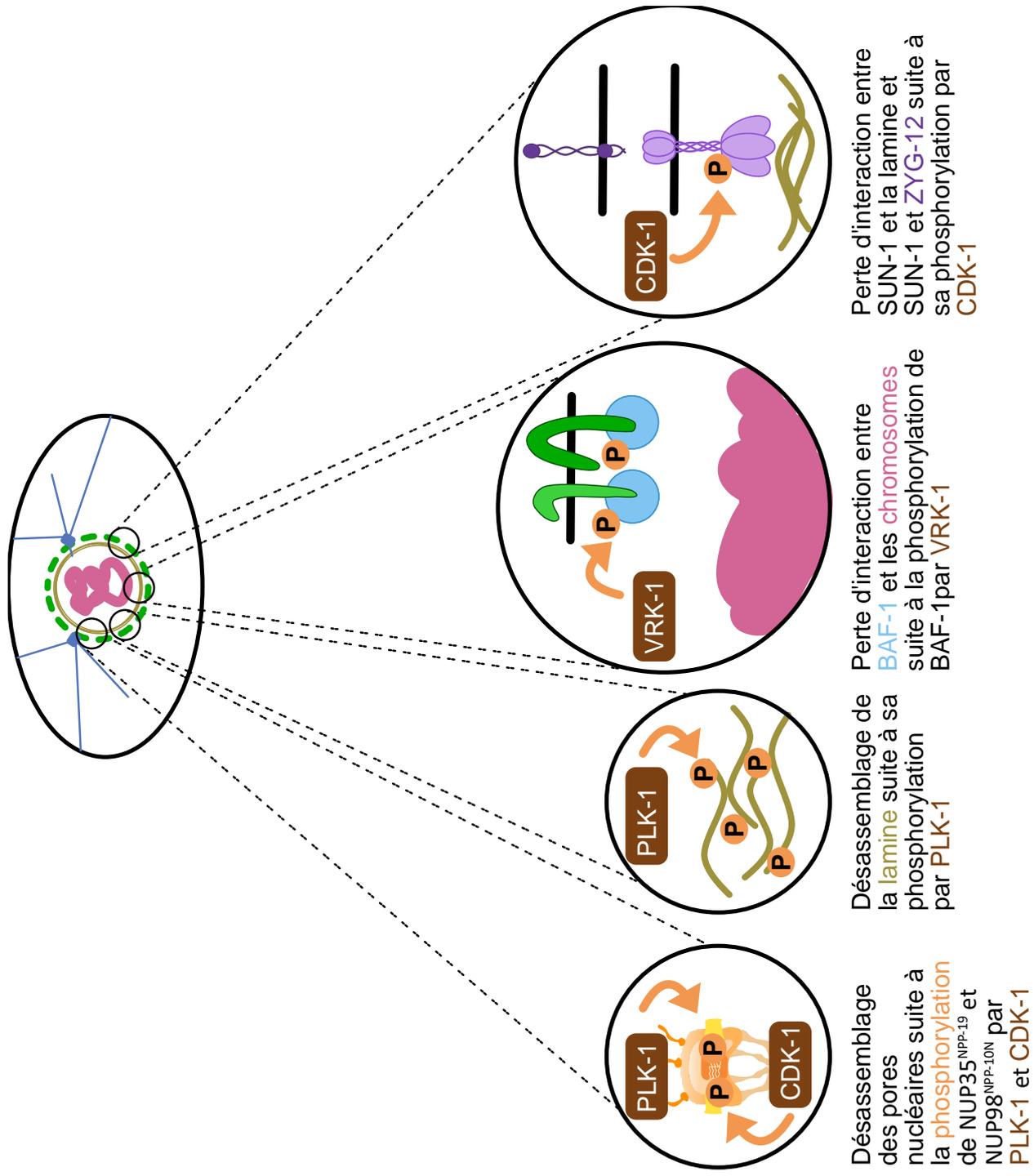


Figure I. 22 : Schéma des différents événements accompagnant la rupture de l'enveloppe nucléaire

2. 1. Rupture de l'enveloppe nucléaire

La rupture de l'enveloppe nucléaire dépend de l'activité de plusieurs phosphatases et kinases mitotiques (Figure I.22). La kinase Vaccinia Related Kinase 1 (VRK-1) phosphoryle BAF-1 et réduit son affinité pour la chromatine. Par conséquent, BAF-1 et les protéines de la MN interne qui lui sont associées se détachent de la chromatine (Nichols, Wiebe, et Traktman 2006; Gorjánác et al. 2007). La déplétion de VRK-1 conduit à une liaison persistante de BAF-1 et des protéines à domaine LEM à la chromatine, et à la formation d'une enveloppe nucléaire dépourvue de pores nucléaires (Gorjánác et al. 2007).

La kinase PLK-1 est également importante pour le désassemblage de l'enveloppe nucléaire. Elle est recrutée à l'enveloppe nucléaire par les nucléoporines du canal central NPP-1^{NUP54}, NPP-4^{NUP11} et NPP-11^{NUP62} (Martino et al. 2017) et y joue plusieurs rôles, dont la phosphorylation de la lamine. Chez *C. elegans*, la lamine LMN-1 phosphorylée par PLK-1 se désassemble et promeut la rupture de l'enveloppe nucléaire. Dans le zygote de *C. elegans*, PLK-1 est notamment requise pour la rupture de l'enveloppe nucléaire dans les pronoyaux mâle et femelle et donc pour permettre le mélange des chromosomes parentaux (Velez-Aguilera et al. 2020). La déplétion de PLK-1 cause la persistance de la lamine et de l'enveloppe nucléaire tout au long de la mitose, conduisant à la formation de noyaux « jumeaux » (Rahman et al. 2015).

Le complexe LINC est phosphorylé par CDK-1. Ceci induit le détachement de SUN1 avec la lamine et la rupture du lien entre le nucléosquelette et le cytosquelette (Patel et al. 2014). Dans le zygote de *C. elegans*, la rupture de l'enveloppe nucléaire commence d'abord au niveau de la partie la plus proche des centrosomes. Les « restes » de l'enveloppe nucléaire s'organisent dès lors parallèlement au fuseau de microtubules (K. K. Lee et al. 2000; Hachet et al. 2012; Cohen-Fix et Askjaer 2017).

Le désassemblage des pores nucléaires nécessite la phosphorylation de plusieurs nucléoporines. C'est le cas de NUP35^{NPP-19} et NUP98^{NPP-10N} qui sont phosphorylées par PLK-1 et CDK-1 à l'entrée en mitose. NUP35 et NUP98 phosphorylées se désengagent alors de l'interaction avec leur nucléoporines partenaires ce qui promeut le désassemblage des pores nucléaires (Linder et al. 2017).

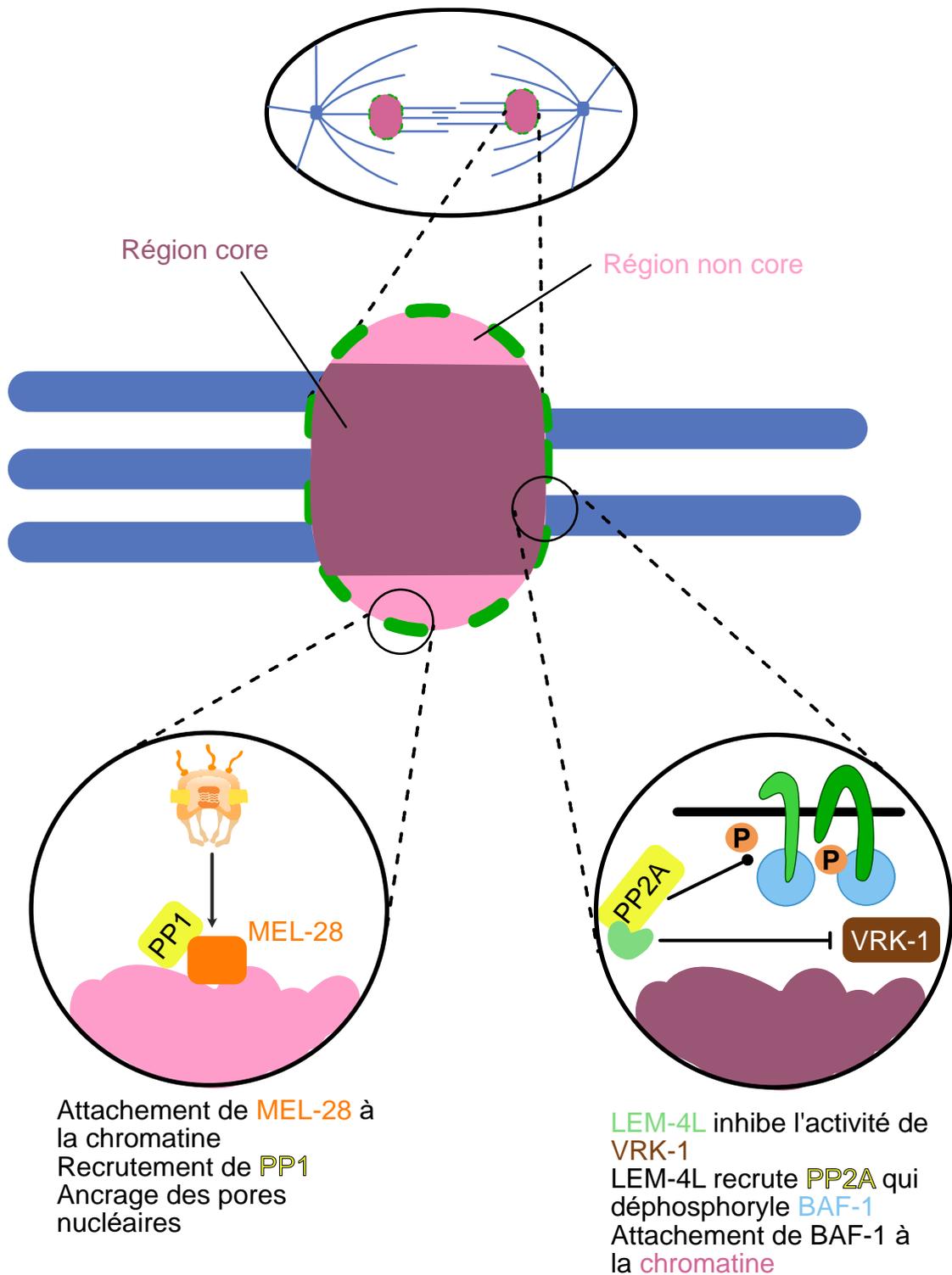


Figure I. 23 : Schéma représentant la région core et la région non core ainsi que les deux voies principales de reformation de l'enveloppe nucléaire

Lors de la rupture de l'enveloppe nucléaire, les différents composants se relocalisent dans différentes structures cellulaires. Certaines nucléoporines se relocalisent aux kinétochores (complexe Y), tandis que d'autres se localisent aux centrosomes ou aux microtubules (voir chapitre V.1.1.2). Dans l'embryon de *C. elegans*, le centriculum (centrosome-associated endoplasmic reticulum) entoure les centrosomes et est composé de nucléoporines et des protéines des MN interne et externe (Poteryaev et al. 2005). C'est le cas de LEM-2, EMR-1, SUN-1, ZYG-12, NPP-12 et NPP-22 (Maheshwari et al. 2022).

2. 2. Reformation de l'enveloppe nucléaire

La reformation de l'enveloppe nucléaire a lieu via le rétablissement du lien entre la chromatine et les membranes. La rapidité avec laquelle l'enveloppe nucléaire se reforme suggère qu'il y a plusieurs mécanismes qui assurent en parallèle le recrutement de membranes autour des chromosomes en cours de décondensation (Schellhaus, De Magistris, et Antonin 2016).

Dans l'embryon de *C. elegans*, l'affinité de BAF-1 (préalablement phosphorylée par VRK-1) pour l'ADN est rétablie par sa déphosphorylation via la phosphatase PP2A (Figure 1.23). Cette dernière est recrutée par la protéine LEM-4L qui, parallèlement, inhibe l'activité de la kinase VRK-1 (Asencio et al. 2012; Gorjánác 2013). Cette association est importante pour le recrutement des membranes autour des chromosomes via la liaison de BAF-1 à la chromatine et aux protéines de la MN interne. En effet dans l'embryon de *C. elegans*, la déplétion de BAF-1 ou l'utilisation d'un mutant thermosensible de LEM-4L conduisent à la formation de membranes discontinues qui ne recouvrent pas la totalité des chromosomes (Asencio et al. 2012). Dans les cellules HeLa, les homodimères de BAF forment un réseau dense qui entoure chaque lot de chromosomes en anaphase, générant ainsi une barrière qui empêche la formation de membranes autour des chromosomes individuels et la formation de micronoyaux (Samwer et al. 2017).

L'attachement de BAF-1 à la chromatine permet alors le recrutement des protéines à domaine LEM à l'enveloppe nucléaire interne (Jun Liu et al. 2003; Gorjánác et al. 2007).

Le lien entre la chromatine et les membranes se fait également par la formation des pores nucléaires et implique notamment l'ancrage de PP1 par MEL-28^{ELYS}.

Cette phosphatase est également essentielle à la déphosphorylation de la lamine en télophase (Steen et al. 2000). Le recrutement de la lamine à l'enveloppe nucléaire est tardif et nécessite son transport, via les pores nucléaires, à l'intérieur du noyau (Newport, Wilson, et Dunphy 1990).

Enfin, le lien entre la chromatine et les membranes se fait également via l'interaction de la lamine avec le complexe LINC. Le mécanisme par lequel ce dernier est recruté à l'enveloppe n'est pas encore établi.

La reformation de l'enveloppe nucléaire ne se fait pas uniformément autour de chaque lot de chromosomes. On distingue deux zones chromatiniennes appelées régions « core » et « non core ». La région « core » est la région centrale perpendiculaire au fuseau de microtubules. Dans cette région, se concentrent BAF et les protéines à domaine LEM qui y sont associées. La région « non core » est la région latérale qui se situe parallèlement au fuseau de microtubules. C'est dans cette région que se reforment préférentiellement les pores nucléaires (Schellhaus, De Magistris, et Antonin 2016).

3. Mécanismes de fermeture de l'enveloppe nucléaire

La reformation de l'enveloppe nucléaire se conclut par une étape de scellement afin de restreindre les échanges nucléo-cytoplasmiques de matériel au niveau des pores nucléaires. Cette étape se déroule dans la région « core » et est couplée avec la dépolymérisation des microtubules du fuseau central d'anaphase. Le scellement de l'enveloppe nucléaire requiert l'intervention du complexe ESCRTIII (Endosomal Sorting Complex Required for Transport III) qui est recruté par LEM2. En effet, LEM2 s'accumule à l'endroit où les microtubules traversent les membranes, via son recrutement par BAF. LEM2 lie directement les microtubules et subit une séparation de phases liquide-liquide (liquid-like phase separation) via son domaine de faible complexité (Low Complexity Domain, LCD) afin de permettre sa condensation sur les microtubules. Puis LEM2, via son domaine « winged-helix », recrute et active CHMP7 (CHarged Multivesicular body Proteins 7), une protéine du complexe ESCRTIII. LEM2 et CHMP7 forment alors une barrière qui sépare le nucléoplasme du cytoplasme en attendant le recrutement des autres membres du complexe ESCRTIII (Olmos et al. 2015; Olmos, Perdrix-Rosell, et Carlton 2016; von Appen

et al. 2020). Ce complexe est composé de CHMP4A, CHMP4B, CHMP4C, CHMP3, CHMP2A, CHMP2B, CHMP1A, CHMP1B, CHMP5, IST1 et CHMP7 (Hanson et Cashikar 2012). Le complexe ESCRTIII, recruté par CHMP7, se polymérise sous forme de filaments hélicoïdaux au niveau des membranes et recrute l'ATPase Vacuolar Protein Sorting 4 (VPS4). Ce complexe favorise le remodelage et la fermeture des membranes (Vietri et al. 2015; Pfitzner, Moser von Filseck, et Roux 2021; Penfield et al. 2020). Le complexe ESCRTIII recrute également la spastine qui coupe les microtubules du fuseau central en contact avec l'enveloppe nucléaire (Vietri et al. 2015).

Matériel et méthodes

Maintenance des lignées *C. elegans*

Les lignées utilisées dans cette étude sont listées dans le tableau supplémentaire 1. Les vers ont été maintenus sur des boîtes contenant du milieu de croissance gélifié pour nématodesensemencées avec des bactéries OP50 à 23°C.

ARN interférence

Les ARNs double-brins utilisés dans cette étude sont énumérés dans le tableau supplémentaire 2. Ils ont été synthétisés en utilisant les amorces et les matrices indiquées dans ce même tableau. Les produits de PCR ont été purifiés (kit de purification PCR, Qiagen) et utilisés comme matrices pour les réactions de transcription T3 et T7 (Megascript, Ambion). Les ARNs produits ont été purifiés (kit MEGAclean, Invitrogen) puis hybridés par incubation à 68°C pendant 10 minutes, puis à 37°C pendant 30 minutes. Des hermaphrodites au stade L4 ont été injectés avec les dsRNA aux concentrations indiquées et incubés à 20°C pendant 44-48 h, ou 36-42h pour la condition *mel-28;knl-3(RNAi)*.

Dégradation induite par l'auxine

La lignée exprimant *baf-1* étiqueté de façon endogène par le degron inducible par l'auxine (*mAID*) a été croisée avec une souche portant le transgène TIR1 (obtenue de CGC{Ashley, 2021 #10236}) puis avec des vers exprimant GFP::*tbb-2*- et mCherry::*his-11*. La déplétion de BAF-1 a été obtenue en couplant l'injection d'ARN double-brin ciblant BAF-1 et la dégradation induite par l'auxine. Les vers ont été placés 32h après leur injection sur des boîtesensemencées de OP50 contenant du milieu de croissance de nématode + 4mM d'auxine pendant 16h.

Vidéomicroscopie d'ovocytes vivants

Les vers adultes ont été disséqués dans 5µl de milieu de méiose (Inuline 0,5mg/mL, 25mM HEPES, 60% de milieu L-15 de Leibovitz et 20% de sérum bovin foetal).

L'imagerie a été réalisée à 23°C à l'aide du système de contrôle de température CherryTemp (CherryBiotech). Toutes les acquisitions ont été réalisées à l'aide d'un microscope inversé Nikon Ti-E, équipé d'une tête confocale à disque rotatif CSU-X1 (Yokogawa) avec une roue à filtres d'émission et une caméra CCD coolSNAP HQ2 (Photometrics Scientific). Le contrôle de la platine et la correction de la mise au point pendant l'acquisition ont été effectués à l'aide du piezo moteur PZ-2000 XYZ d'Applied Scientific Instrumentation (ASI). Les films ont été acquis avec un binning 2 x 2 en utilisant un objectif à immersion d'huile Nikon CFI APO S 60x/NA1.4. Pour tous les films, 4 plans Z, séparés par 2 µm, ont été acquis toutes les 20 secondes. Le contrôle des paramètres d'acquisition a été assuré par le logiciel Metamorph 7 (Molecular Devices).

Traitement à la colchicine ou au nocodazole

Les vers adultes exprimant la GFP-LEM-2 et le mCherry-histone ont été disséqués dans un milieu de méiose avec 100 ng/µl de nocodazole ou 100mM de colchicine.

Microscopie électronique à balayage de face de bloc en série (Serial Block-Face Scanning Electron Microscopy, SBF-SEM)

Après la dissection de vers dans 5µl de milieu de méiose, les ovocytes ont été transférés et emballés dans des tubes capillaires en nitrocellulose de 200 µm de diamètre intérieur (Leica Microsystems). Les ovocytes enfermés dans les tubes capillaires ont été maintenus dans une goutte de milieu de méiose et filmés par vidéo-microscopie. Une fois en intercinèse, 15 µl de milieu de fixation (1% de glutaraldéhyde, 2% de formaldéhyde dans du PBS 1x) sont ajoutés aux 5µl de milieu de méiose contenant les ovocytes. Puis, chaque ovocyte est transféré dans un tube contenant 1ml de milieu de fixation. Les ovocytes ont ensuite été incubés 1 heure à température ambiante. Ils ont ensuite été conservés à 4°C jusqu'à la préparation (Deerinck et al. 2010). Après trois lavages dans du PBS 1X, les ovocytes ont été traités dans une solution d'osmium réduit (1% de tétroxyde d'osmium (OsO₄), 1,5% de ferrocyanure de potassium dans du PBS 1x) à 4°C pendant une heure. Ils ont été ensuite incubés dans une solution de thiocarbohydrazide (TCH) à 1% dans de l'eau pendant 20 minutes à température ambiante. Puis, ils ont été traités avec de l'OsO₄ à 2% dans de l'eau pendant 30 minutes à température ambiante avant d'incuber toute la nuit à 4°C dans de l'acétate d'uranyle dilué à 1% dans de l'eau.

Les échantillons ont été soumis le lendemain à une coloration en bloc à l'aspartate de plomb de Walton (Walton 1979), et placés dans un four à 60 °C pendant 30 minutes. Les échantillons ont ensuite été déshydratés dans des concentrations graduelles d'éthanol (20%, 30%, 50%, 70%, 90% et 100%) pendant 10 minutes chacune à température ambiante sur roue. Les échantillons ont été infiltrés avec une résine Agar à faible viscosité (Agar Scientific Ltd) à 30 % pendant 1 heure, puis à 50 % pendant 2 heures, puis à 75% pendant 2 heures et enfin à 100 % pendant la nuit. La résine a ensuite été changée et les échantillons ont été inclus à nouveau pendant 3 heures avant d'être montés et polymérisés pendant 18h à 60 °C. Les blocs polymérisés ont été montés sur des broches en aluminium spéciales pour l'imagerie SBF (FEI Microtome 8mm SEM Stub, Agar Scientific), avec un kit époxy argent de conduction en deux parties (EMS, 190215).

Les échantillons montés sur des broches en aluminium ont été coupés et insérés dans un microscope électronique à balayage TeneoVS (Thermo Fisher Scientific).

Les acquisitions ont été réalisées avec une énergie de faisceau de 2kV, un courant de 200pA, en mode LowVac à 40Pa, un temps d'arrêt de 1µs par pixel et des sections de 30nm. Le logiciel IMOD a ensuite été utilisé pour segmenter les chromosomes et les membranes (Kremer, Mastronarde, et McIntosh 1996).

Immunofluorescence

10-15 vers adultes ont été disséqués dans 3,5µl de milieu de méiose sur des lames recouvertes de poly-l-lysine à 1mg/ml dans du PBS (Sigma P-1524). Les lames ont ensuite été recouvertes d'une lamelle 12x12mm et ont été congelées dans de l'azote liquide. Les ovocytes ont ensuite été fixés dans le méthanol à 100% pendant 20 minutes à -20°C. Après deux lavages de 10 minutes au PBS 1X, les ovocytes ont été bloqués dans de l'AbDil (4% d'albumine de sérum bovin et 0,1% triton dans du PBS) pendant une heure à température ambiante dans une chambre humide. Les échantillons ont été par la suite incubés dans une solution d'anticorps primaires pendant une nuit à 4°C (Pour la figure R.1D :anti-GFP 1:200 (Roche 11814460001), anti-tubuline 1:200, anti-CHMP-7 1:1000 ou anti-VPS-32 1 :1000 (Penfield et al. 2020) ; pour la figure R.1F : anti-LEM-2 (Novus Biologicals 48540002)). Après deux lavages dans de l'Abdil, les échantillons ont été incubés pendant une heure à température ambiante avec les anticorps secondaires (Pour la figure R.1.D : anti-lapin Cy5 à 1:100, anti-souris Cy2 à 1:100 et anti-humain à Cy3 1:100 ; Pour la figure R.1.F : anti-lapin

Cy3, Anti-Alpha Tubuline Sigma Aldrich F2168). Après deux lavages dans de l'Abdil, les échantillons ont été marqués avec du hoechst à 1:1000 pendant 10 minutes. Ils ont ensuite été lavés deux fois au PBS 1X + 0,1% Triton 100X puis une fois avec le PBS 1X. Les lames ont ensuite été montées avec le milieu de montage (0.5% de p-phenylenediamine dans 90% de glycérol et 20mM de Tris pH 8.8). Les lames ont ensuite été conservées à -20°C. Toutes les images d'immunofluorescence sont des projections max de plans acquis tous les 0,2µm.

Quantifications

Les quantifications ont été réalisées sur les images en projection maximum selon le protocole proposé dans Hattersley et al. 2018 à l'aide du logiciel Fiji {Schindelin, 2012 #9936}.

Graphiques et tests statistiques

GraphPad Prism 8 a été utilisé pour générer tous les graphiques et les tests statistiques. Le test statistique utilisé dans cette étude est le test non-paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Lignées	Génotypes	Références
BN47	npp-19(tm2886) II; ltIs37[Ppie-1::mCherry::his-58; unc-119 (+)] IV; bqIs07[unc-119(+); Ppie-1::LAP::npp-19] ?	(Ródenas et al. 2009)
BN68	bqIs51[Ppie-1::gfp::npp-5]; ltIs37[Ppie-1::mCherry::his-58	(Ródenas et al. 2012)
BN593	dpy-10(cn64) npp-21(bq1[npp-21::gfp]) II; ltIs37[Ppie-1::mCherry::his-58; unc-119 (+)] IV dpy-10(cn64) npp-21(bq1[npp-21::gfp]) II; ltIs37[Ppie-1::mCherry::his-58; unc-119 (+)] IV	Fournie par Dr. Peter Askjaer
BN740	npp-24(bq15[G>F>P::npp-24]) bqSi189[pBN13(unc-119(+)) lmn-1::mCherry::his-58] II; may carry unc-119(ed3) or unc-119(ed9) III	(Thomas, Askjaer, et Seydoux 2022)
BN1112	bqSi189[pBN13(unc-119(+)) lmn-1p::mCherry::his-58] II; npp-25(bq41[npp-25::G>F>P]) III	Fournie par Dr. Peter Askjaer
JDU424	ijmSi49 [pJD479_pJD348_Mos1_Pmex-5_GFP::lmn-1_3'UTRtbb-2]; ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry::his11_3'UTRtbb-2]II; unc-119(ed3) III?	Cette étude
JDU455	ijmSi47 [pJD478_pJD348_Mos1_Pmex-5_GFP::emr-1_3'UTRtbb-2]I; ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry::his11_3'UTRtbb-2]II; unc-119(ed3) III?	Cette étude
JDU456	[WRM0636A_D05(pRedFlp-Hgr)::unc-119-Nat(npp-11(37836)::2XTY1-eGFP(C.ele)-3XFlag)dFRT]?; ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry::his11_3'UTRtbb-2]II; unc-119(ed3) III?	Cette étude
JDU461	ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry::his11_3'UTRtbb-2]II; baf-1(bq12[GFP::baf-1]), unc-119(ed3) III?	Cette étude
JDU509	ojIs9[zyg-12(all)::GFP + unc-119(+)]?; unc-119(ed3) III?; ltIs37[pAA64; pie-1/mCHERRY::his-58; unc-119 (+)] IV.	Cette étude

JDU613	ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry_his11_3'UTRtbb-2]II; unc-119(ed3) III?; npp-13(Syb1526[gfp::npp-13])I	Cette étude
JDU647	ijmSi63 [pJD520; mosII_5'mex-5_GFP::tba-2; mCherry::his-11; cb-unc-119(+)] II; baf-1(syb2768[OLLAS::mAID::baf-1])III; ieSi38 [sun-1p::TIR1::mRuby::sun-1 3'UTR + Cbr-unc-119(+)] IV	Cette étude
JDU664	ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry_his11_3'UTRtbb-2]II; mel-28(bq5[GFP::mel-28]) unc-119(ed3) III? III	Cette étude
JDU714	npp-7(phx1469[sgfp::npp-7])I; ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry_his11_3'UTRtbb-2]II; unc-119(ed3) III?	Cette étude
JDU734	npp-12(phx3417(gfp::npp-12))I; ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry_his11_3'UTRtbb-2]II; unc-119(ed3) III?	Cette étude
JDU761	itIs37 [pie-1p::mCherry::H2B::pie-1 3'UTR + unc-119(+)] IV. orIs13 [pie-1p::GFP::npp-22(genomic)::pie-1 3'UTR + unc-119(+)] ; ijmSi31 [pJD446_pJD362_Mos2_Pmex-5_mCherry_his11_3'UTRtbb-2]II;	Cette étude
OD83	qals3507 [pie-1::GFP::LEM-2 + unc-119(+)] III ItIs37 [(pAA64) pie-1p::mCherry::his-58 + unc-119(+)] IV.	CGC
OD270	unc-119(ed3) III; oJls23[SP12(C34B2.10)::GFP unc-119(+)]; ItIs37[pAA64; pie-1/mCHERRY::his-58; unc-119 (+)]	Penfield et al., 2020
PHX2768	baf-1(syb2768[OLLAS::mAID::baf-1])III; ieSi38 [sun-1p::TIR1::mRuby::sun-1 3'UTR + Cbr-unc-119(+)] IV	Cette étude
WLP584	jjIs1092[pNUT1)npp-1::GFP+unc-119(+)]; ItIs37[Ppie-1::mCherry::his-58;unc-119(+)]IV	Fournie par Dr. Lionel Pintard

Tableau 1 : Lignées de vers utilisées dans cette étude

Nom du gène	Numéro de gène	Amorces	Matrice	Concentration (µg/µl)
baf-1	B0464.7	AATTAACCCTCACTAAAGGCGTAGAAAATATTTTATTTGGAGG TAATACGACTCACTATAGGATGTGCGACTTCTGTTAAGCATCG	ADNg	2,1
lin-5	T09A5.10	AATTAACCCTCACTAAAGGATCGCCGAGGAGGCACAATT TAATACGACTCACTATAGGGCTTCATTACCACACTTGCG	ADNc	1,45
mel-28	C38D4.3	AATTAACCCTCACTAAAGGCGTCAGCGGTTGAGTTCTTC TAATACGACTCACTATAGGCGTGTCTGGATGTTCTGG	ADNg	1,48
npp-5	F07A11.3	AATTAACCCTCACTAAAGGTTCTTTGGAGTGAGAAAGCG TAATACGACTCACTATAGGATCTTGAATAAAATGCAGCC	ADNg	1,49
npp-6	F56A3.3	AATTAACCCTCACTAAAGGTTGGAACATGGTTGACATCG TAATACGACTCACTATAGGTTCCAAGAAGTATTGCAGG	ADNg	1,75
npp-7	T19B4.2	AATTAACCCTCACTAAAGGAAGTCAACCAAACCTTCCG TAATACGACTCACTATAGGAAGTCCGTTTTGGAATTGC	ADNg	1,35
npp-12	T23H2.1	AATTAACCCTCACTAAAGGTTGTGACTCCACTGAAACCC TAATACGACTCACTATAGGAACATTCAATGGGCACTGG	ADNg	1,42
npp-19	R06F6.5	AATTAACCCTCACTAAAGGTCATACTTGAGCGAGTTATTTGC TAATACGACTCACTATAGGACACCGCTAGCCCGCTCAACAC	ADNg	1,15
npp-25	Y37D8A.17	AATTAACCCTCACTAAAGGATGATCATCAATCTTCATCC TAATACGACTCACTATAGGATGACTGGCGGAGCTCTAGC	cDNA	2,35

Tableau 2 : Amorces et matrices utilisées pour la production des ARN interférents

Résultats

Contexte de la recherche

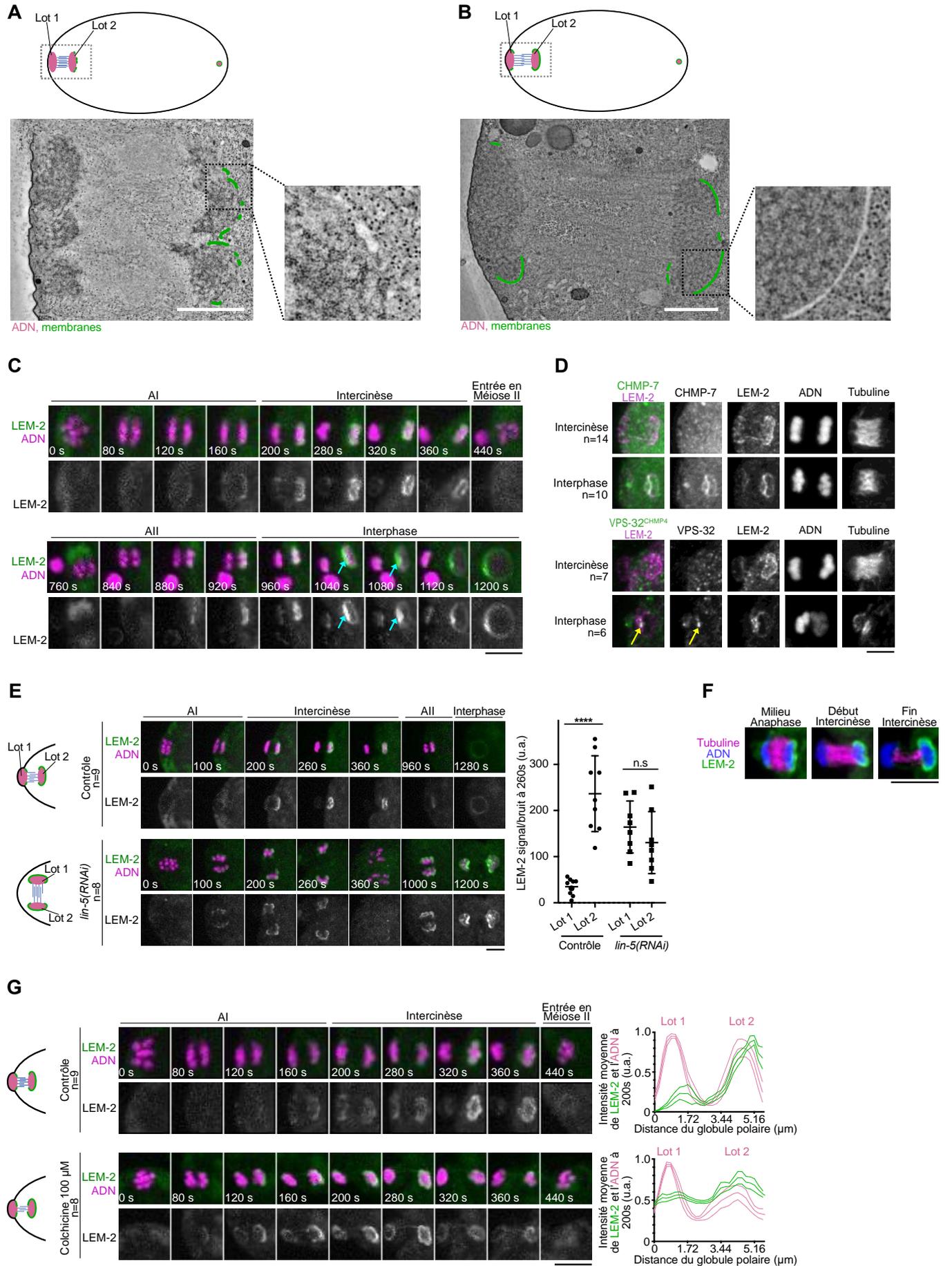
Chez les eucaryotes multicellulaires, la sortie d'interphase et l'entrée en phase M sont marquées par la rupture de l'enveloppe nucléaire et la condensation des chromosomes. Puis en fin de division, l'enveloppe nucléaire se reforme autour des chromosomes en cours de décondensation. L'enveloppe nucléaire est une double membrane qui délimite le noyau, le compartiment cellulaire où est contenu l'ADN chez les eucaryotes. L'enveloppe nucléaire est composée d'une MN interne tapissée par la lamine. La MN interne contient un lot unique de protéines, dont les protéines à domaine LEM, qu'elle ne partage pas avec la MN externe. La MN externe est en continuité avec le RER dont elle partage la composition et la fonction. Les échanges entre le cytoplasme et le nucléoplasme sont assurés par les complexes des pores nucléaires et le complexe LINC (Cohen-Fix et Askjaer 2017).

La reproduction des organismes nécessite la production de cellules haploïdes (gamètes) au cours de la méiose. La méiose correspond à deux étapes successives de ségrégation des chromosomes séparées par un court intervalle appelé intercinèse. Lors de l'intercinèse femelle, les chromosomes restent condensés. Il a donc été admis que l'enveloppe nucléaire ne se reforme pas à ce stade.

Dans les ovocytes de *Caenorhabditis elegans*, l'organisation du fuseau a lieu en absence de centrosomes et la ségrégation des chromosomes requiert un mécanisme atypique de poussée. Les microtubules du fuseau central s'assemblent entre les deux lots de chromosomes et génèrent des forces de poussée permettant leur ségrégation et se concluant par l'expulsion du premier globule polaire (Laband et al. 2017).

L'étude de l'organisation du fuseau central d'anaphase a permis d'observer, par microscopie électronique, l'existence d'une double membrane qui recouvre le lot de chromosomes restant dans l'ovocyte (Figure R.1A, (Laband et al. 2017; Penfield et al. 2020)).

Figure R. 1



Mon travail de thèse démontre que cette double membrane est différente de l'enveloppe nucléaire tant dans sa composition que dans son mécanisme de formation. L'enveloppe d'intercinèse est donc une nouvelle organelle qui se reforme de manière transitoire en intercinèse dans les ovocytes de *C. elegans*.

Résultats

1. Une double membrane recouvre les chromosomes en intercinèse

Afin de confirmer la présence d'une double membrane entourant les chromosomes en cours de ségrégation pendant l'intercinèse dans l'ovocyte de *C. elegans*, j'ai réanalysé des données de microscopie électronique en tomographie obtenue par mon équipe d'accueil. Deux jeux de données, correspondant respectivement à des ovocytes en milieu et en fin d'anaphase I, étaient disponibles (Figure R.1A et R.1B). Dans les deux cas, une double membrane est visible, entourant la face externe du lot de chromosomes maintenu dans l'ovocyte (lot 2). Cette double membrane apparaît visiblement plus continue en anaphase tardive. Des fragments de double membrane sont également apparents sur le lot de chromosomes expulsés dans le globule polaire (lot 1). Ceux-ci sont, par contre, restreints aux extrémités latérales du lot de chromosomes. En accord avec les observations de Penfield et al, la double membrane est dépourvue de pores nucléaires. Enfin, de manière intéressante et contrairement à l'enveloppe nucléaire en interphase, la membrane externe recouvrant les chromosomes n'est pas en continuité avec le réticulum endoplasmique (Figure R.1A et R.1B, (Penfield et al. 2020)).

D'une manière générale, et bien que l'analyse ultrastructurale de cette double membrane montre des différences d'organisation avec une enveloppe nucléaire classique, sa topologie en est tout de même réminiscente. Afin de confirmer la nature de cette structure membranaire, j'ai donc réalisé des expériences de vidéomicroscopie d'ovocytes vivants exprimant la protéine spécifique de la membrane nucléaire interne LEM-2 fusionnée à la GFP (Green Fluorescent Protein) et l'histone H2B fusionnée à la mCherry (Figure R.1C).

J'ai ainsi pu observer une accumulation progressive de GFP::LEM-2 à la surface externe du lot 2, à partir de 100 secondes après le début de l'anaphase I. GFP::LEM-2 s'accumule d'abord sur la face externe du lot de chromosome 2, qu'elle entoure ensuite totalement. GFP::LEM-2 disparaît abruptement à l'entrée en méiose II, au moment où les chromosomes s'individualisent. En accord avec mes observations par microscopie électronique en tomographie, j'observe également GFP::LEM-2 faiblement aux extrémités latérales du lot 1. GFP::LEM-2 se réaccumule ensuite progressivement autour des chromosomes du futur pronoyau maternel, au cours de l'anaphase II, pour former l'enveloppe nucléaire de ce pronoyau.

La combinaison de mes observations, en microscopie électronique en tomographie et par vidéomicroscopie, suggère donc qu'une double membrane, présentant certaines caractéristiques de l'enveloppe nucléaire, se forme autour des chromosomes au cours de l'intercinèse.

2. L'enveloppe d'intercinèse n'est pas scellée

En accord avec les observations de Penfield et al. 2020, GFP::LEM-2 s'accumule intensément au niveau de la face interne du futur pronoyau femelle au cours de l'anaphase II (Figure R.1C flèches en cyan). GFP::LEM-2 forme alors une structure en « plaque », site de recrutement des composants du complexe ESCRTIII, dont CHMP-7 et VPS-32^{CHMP4}. Le complexe ESCRTIII remodèle et scelle l'enveloppe nucléaire à cet endroit. En intercinèse, je n'observe pas d'accumulation similaire de GFP::LEM-2, et donc pas de formation de plaque (Figure R.1C). Cette observation suggère que l'enveloppe d'intercinèse n'est jamais totalement scellée. Afin de confirmer cette hypothèse, j'ai réalisé des immunomarquages à l'aide d'anticorps ciblant les protéines CHMP-7 et VPS-32^{CHMP-4} (Figure R.1D). Comme attendu, CHMP-7 et VPS-32^{CHMP-4} s'accumulent au site de scellement de l'enveloppe nucléaire à la sortie d'anaphase II (Figure R.1D flèches jaunes). En accord avec mon hypothèse, aucune localisation particulière de ces protéines n'est par contre visible en intercinèse. La double membrane constituant l'enveloppe d'intercinèse n'est donc jamais totalement scellée.

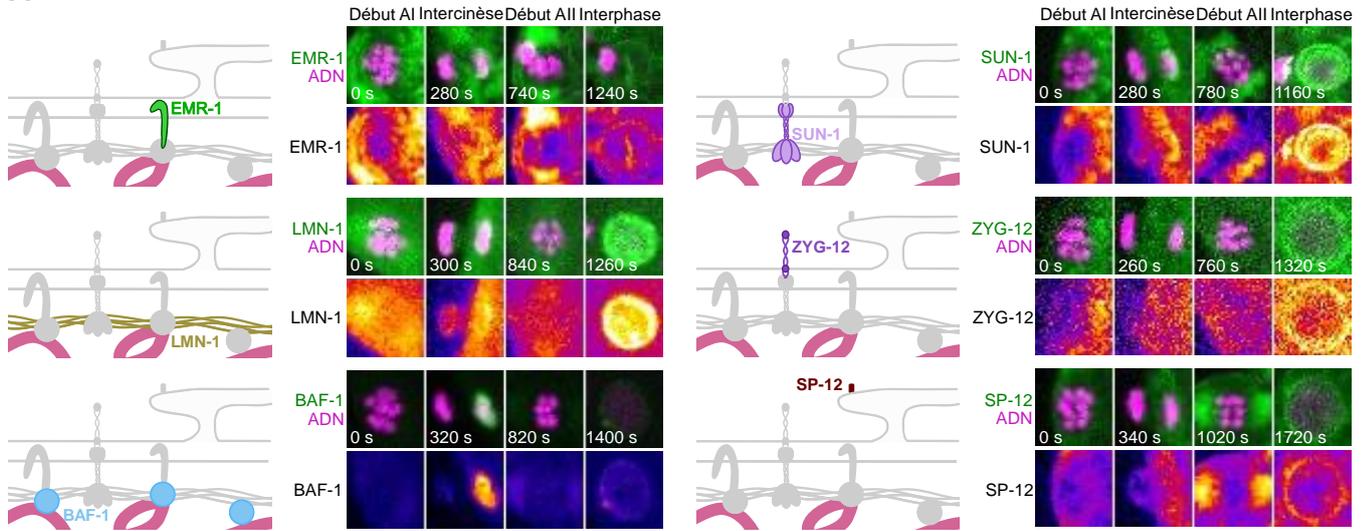
3. La proximité de la membrane plasmique et les microtubules contrôlent les asymétries spatiale et temporelle, respectivement, de formation de l'enveloppe d'intercinèse

Mes observations précédentes montrent que l'enveloppe d'intercinèse se forme de manière asymétrique préférentiellement sur le lot de chromosomes maintenus dans l'ovocyte (lot 2, Figure R.1B et R.1C). Cette asymétrie spatiale et l'absence de double membrane sur la face externe du lot de chromosomes expulsés dans le globule polaire (lot 1), pourraient s'expliquer par la proximité de la membrane plasmique de l'ovocyte qui constituerait une barrière au recrutement des membranes et de GFP::LEM-2. Afin de tester cette hypothèse, j'ai déplété la protéine LIN-5^{NuMA} par ARN interférent (Figure R.1E). LIN-5, orthologue de la protéine NuMA, contrôle le recrutement de la dynéine aux pôles du fuseau méiotique, qui en retour permet la focalisation des pôles et la rotation du fuseau avant l'anaphase I (van der Voet et al. 2009). En absence de LIN-5, le fuseau reste donc parallèle au cortex de l'ovocyte, et les chromosomes se séparent parallèlement au cortex et à distance de la membrane plasmique. Dans ce contexte, GFP::LEM-2 est recrutée sur les deux lots de chromosomes en cours de ségrégation. En effet, dans les ovocytes contrôles, GFP::LEM-2 est significativement plus recrutée sur le lot 2 que sur le lot 1 (valeur $p < 0,0001$), alors qu'en absence de LIN-5, la différence entre les deux lots n'est pas significative (valeur $p = 0,3282$) (Figure R.1E). En absence de LIN-5, j'ai également remarqué que GFP::LEM-2 est moins recrutée sur les deux lots de chromosomes en comparaison avec le lot 2 des ovocytes contrôles (valeur $p = 0,01$). Ceci pourrait être dû à une limitation en membranes pouvant être recrutées à la surface des chromosomes. Ces résultats permettent de conclure que la proximité de la membrane plasmique constitue en effet une barrière au recrutement de GFP::LEM-2 à la surface des chromosomes expulsés dans le globule polaire.

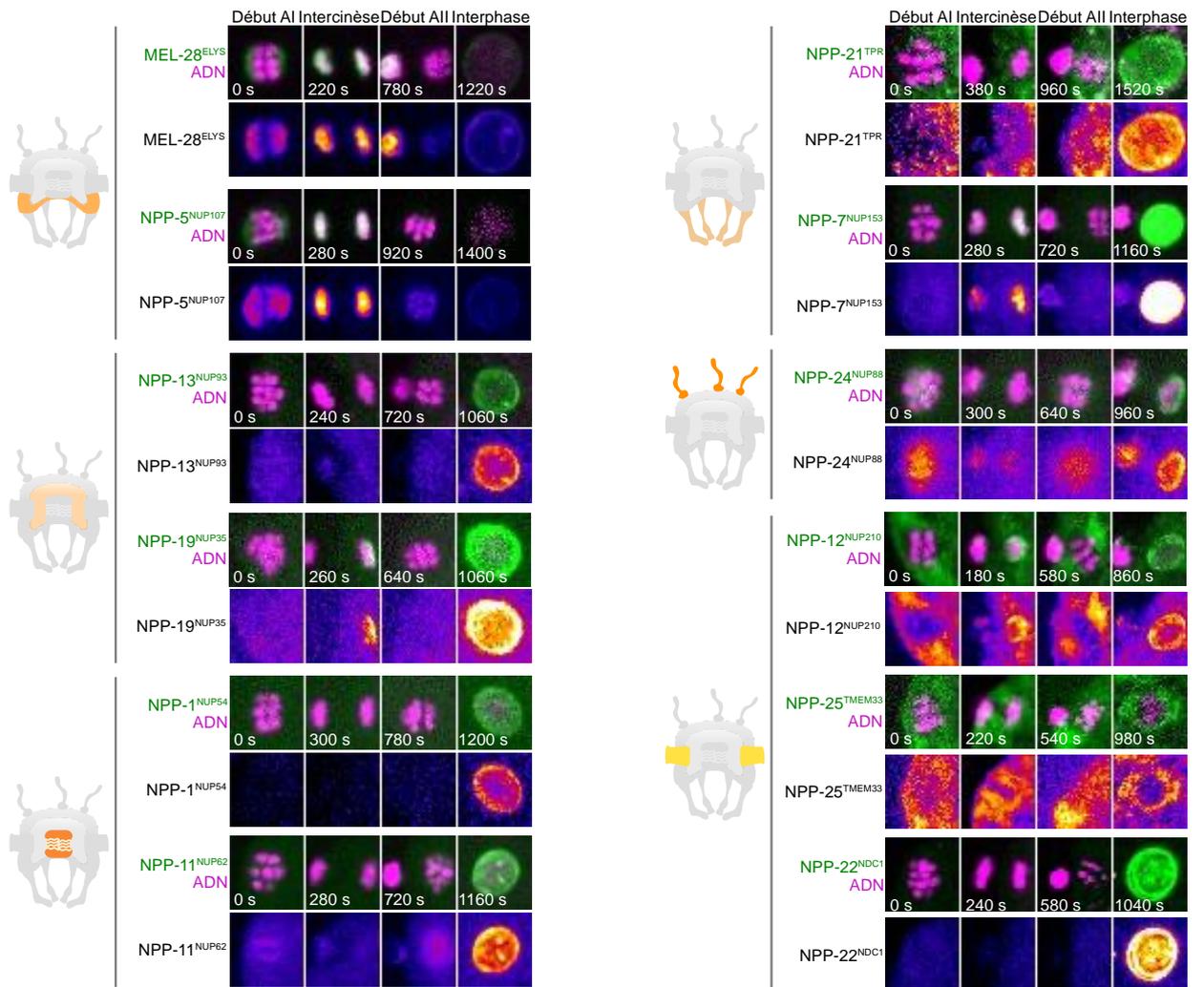
Mes observations montrent que l'enveloppe d'intercinèse se forme d'abord sur la face externe du lot de chromosome maintenu dans l'ovocyte, qu'elle entoure par la suite totalement. Cette observation suggère que le fuseau central méiotique localisé entre les deux lots de chromosomes inhibe la formation de l'enveloppe d'intercinèse sur la face interne des lots de chromosomes en cours de ségrégation (Figure R.1F).

Figure R. 2

A



B



Afin de tester cette hypothèse, j'ai traité des ovocytes par une faible dose de colchicine, suffisante pour réduire significativement la densité des microtubules du fuseau central, mais pas pour inhiber la ségrégation des chromosomes (Figure R.1G). Dans ce contexte, GFP::LEM-2 est recrutée symétriquement sur les faces internes des deux lots de chromosomes en cours de ségrégation et de manière plus précoce que dans les ovocytes contrôles. Ces résultats permettent de conclure que les microtubules du fuseau central d'anaphase ralentissent le recrutement de GFP::LEM-2 sur la face interne du lot de chromosomes maintenu dans l'ovocyte, et inhibent de manière générale, le recrutement de GFP::LEM-2 sur la face interne du lot de chromosomes expulsé dans le futur globule polaire.

L'ensemble de ces résultats permettent de conclure que la membrane plasmique ainsi que la densité des microtubules du fuseau central d'anaphase constituent des barrières au recrutement de GFP::LEM-2 et potentiellement de l'enveloppe d'intercinèse.

4. L'enveloppe d'intercinèse comporte des protéines de la lamine périphérique, mais est dépourvue de protéines de la MN externe

Dans les ovocytes en prophase I et dans le zygote de *C. elegans*, deux protéines à domaine LEM, LEM-2 et EMR-1, sont présentes dans la MN interne de l'enveloppe nucléaire. LEM-2 et EMR-1 sont essentiellement recrutées par la protéine de liaison à la chromatine BAF-1. En parallèle, le complexe LINC, composé de la protéine de la MN interne SUN-1 et externe ZYG-12, relie physiquement le cytoplasme et le nucléoplasme. La MN externe est en continuité avec le réticulum endoplasmique (RE) et présente le marqueur du RE SP12 (Signal Peptidase of 12 kDa). Enfin, un réseau de lamines polymérisées, constitué de l'unique lamine LMN-1 chez *C. elegans*, tapisse la face interne de la MN interne (Cohen-Fix et Askjaer 2017). Afin de déterminer la nature moléculaire précise de l'enveloppe d'intercinèse, j'ai donc analysé la dynamique de ces différents composants de l'enveloppe nucléaire fusionnés à la GFP par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants au cours des divisions méiotiques (Figure R.2A).

En plus de LEM-2, j'ai ainsi pu observer la présence de la deuxième protéine à domaine LEM, EMR-1, ainsi que de la protéine en amont BAF-1, à la surface externe des chromosomes. BAF-1 est aussi présente sur toute la surface des chromosomes. J'ai également observé la présence de la protéine SUN-1 à la surface du lot de chromosomes 2, mais de manière surprenante pas de son partenaire ZYG-12. En accord avec l'absence de continuité de l'enveloppe d'intercinèse avec le RE, le marqueur SP12 n'est également pas visible au niveau de l'enveloppe d'intercinèse. Enfin, bien qu'en interphase le recrutement de la lamine à l'enveloppe nucléaire soit tardif et nécessite la présence des pores nucléaires (Newport, Wilson, et Dunphy 1990), LMN-1 est présente au niveau de l'enveloppe d'intercinèse. Dans l'ensemble, mes observations permettent donc de conclure que l'enveloppe d'intercinèse présente tous les marqueurs de la lamine périphérique, mais aucun marqueur de la MN externe. L'ensemble des marqueurs de la lamine périphérique et de la MN externe analysés sont par contre visibles à la sortie de méiose II, lorsque l'enveloppe nucléaire interphasique se reforme autour des chromosomes maternels.

5. L'enveloppe d'intercinèse comporte des protéines des pores nucléaires

Le pore nucléaire est un complexe macromoléculaire qui se divise en 6 sous-complexes : les anneaux nucléoplasmique et cytoplasmique formés de polymères de complexe Y, l'anneau interne, le canal central, le panier nucléaire, les filaments cytoplasmiques et le complexe transmembranaire (Cohen-Fix et Askjaer 2017). Mes observations en microscopie électronique suggèrent l'absence de pore nucléaire au sein de l'enveloppe d'intercinèse (Figure R.1B).

Néanmoins, et de manière surprenante, certaines nucléoporines sont présentes sur la surface externe des chromosomes en cours de ségrégation au cours de l'anaphase et de l'intercinèse. C'est le cas, par exemple des membres du complexe Y qui se localisent au niveau des kinétochores en mitose et en méiose, puis à la surface externe des lots de chromosomes en cours de ségrégation en méiose. Dans l'ovocyte de *C. elegans* en métaphase I, les huit membres du complexe Y colocalisent ainsi avec les kinétochores en forme de « tasse » à la surface des chromosomes (Hattersley et al. 2016).

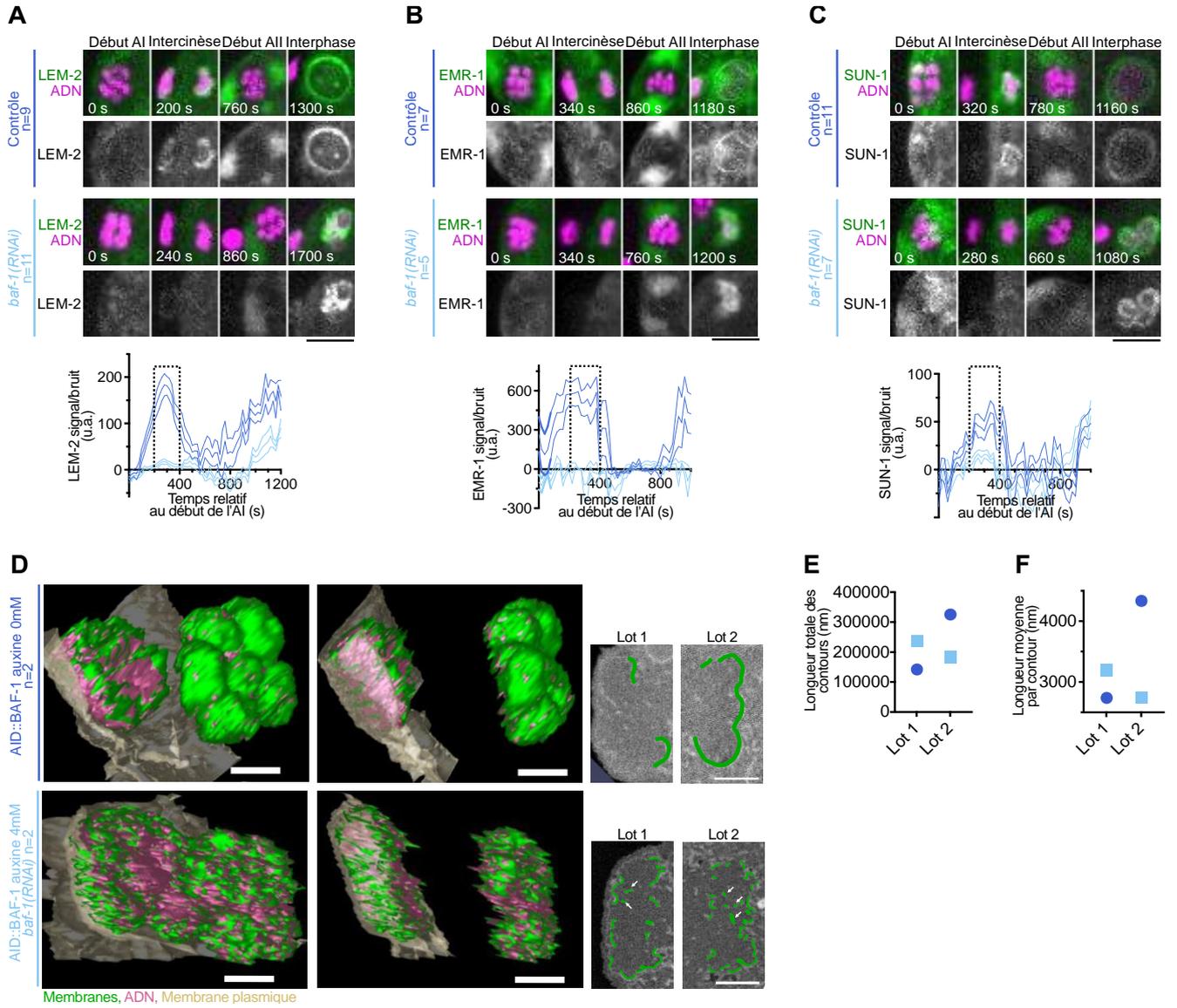
Par ailleurs, alors que les kinétochores se désassemblent rapidement après le début de l'anaphase, la localisation des membres du complexe Y MEL-28^{ELYS} et NPP-6^{NUP160}, à la surface des chromosomes en cours de ségrégation, persiste jusqu'à l'entrée en méiose II, colocalisant alors avec l'enveloppe d'intercinèse (Hattersley et al. 2016; Penfield et al. 2020). Afin de déterminer si d'autres nucléoporines sont présentes à la surface des chromosomes pendant l'intercinèse, j'ai réalisé des expériences de vidéomicroscopie d'ovocytes vivants exprimant différentes nucléoporines fusionnées à la GFP et l'histone H2B fusionné à la mCherry (Figure R.2B). J'ai ainsi confirmé la présence de MEL-28^{ELYS} et observé celle de NPP-5^{NUP107}, du complexe Y, sur la surface des chromosomes en cours de ségrégation.

L'anneau interne est un des complexes structuraux du pore nucléaire qui tapisse sa partie interne. En intercinèse, j'ai pu détecter la présence de NPP-19^{NUP35}, membre de ce sous-complexe, mais pas celle de NPP-13^{NUP93}. Cette observation montre que des nucléoporines du même sous-complexe ne sont pas forcément co-recrutées à l'enveloppe d'intercinèse. L'anneau interne recrute ensuite le canal central qui est composé de nucléoporines à répétitions FG, nécessaires pour établir la perméabilité des pores nucléaires. En intercinèse, je n'ai pas détecté la présence de NPP-1^{NUP54} et NPP-11^{NUP62} du canal central. Ceci pourrait être dû à l'absence de NPP-13^{NUP93} qui est normalement responsable de leur recrutement (Sachdev et al. 2012).

La face nucléoplasmique des pores nucléaires se compose du panier nucléaire. J'ai étudié la localisation de NPP-7^{NUP153} et NPP-21^{TPR}, et constaté qu'en intercinèse NPP-7^{NUP153} se localise sur toute la surface des deux lots de chromosomes en cours de ségrégation, tandis que NPP-21^{TPR} est totalement absente. En interphase, NPP-7^{NUP153} est nécessaire pour le recrutement de NPP-21^{TPR} à l'enveloppe nucléaire (Hase et Cordes 2003; Walther et al. 2001). Mon observation en intercinèse suggère donc que NPP-7^{NUP153} n'est par contre pas suffisante pour le recrutement de NPP-21^{TPR}.

Sur la face cytoplasmique du pore nucléaire s'organisent les filaments cytoplasmiques. la nucléoporine NPP-24^{NUP88} des filaments cytoplasmiques ne se localise pas sur la surface des chromosomes. Elle présente une localisation entre les deux lots de chromosomes au niveau des microtubules du fuseau central.

Figure R. 3



J'ai enfin étudié la localisation en intercinèse des nucléoporines NPP-12^{NUP210}, NPP-25^{TMEM33} et NPP-22^{NDC1} du complexe transmembranaire. Seules NPP-12^{NUP210} et NPP-25^{TMEM33} sont présentes à la surface externe du lot chromosomes maintenu dans l'ovocyte. De manière intéressante, hormis les protéines du complexe Y, toutes les nucléoporines présentes au niveau de l'enveloppe d'intercinèse (NPP-19^{NUP35}, NPP-7^{NUP153}, NPP-12^{NUP210}, NPP-25^{TMEM33}) possèdent un domaine transmembranaire (Vollmer et al. 2012; 2015; Hamed et Antonin 2021; Galy, Mattaj, et Askjaer 2003; Cohen et al. 2003). Ceci suggère que le recrutement de ces protéines à la surface externe des chromosomes en cours de ségrégation pourrait être dû à leur capacité à se localiser aux niveau des membranes, indépendamment de leur localisation canonique aux pores nucléaires.

6. BAF-1 est importante pour l'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse

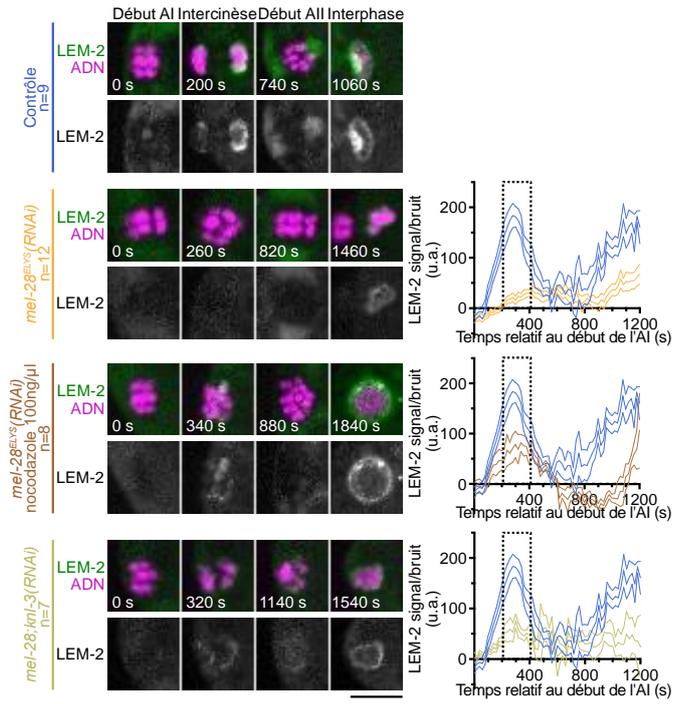
En fin d'anaphase mitotique, BAF est essentielle à la reformation de l'enveloppe nucléaire dans la plupart des systèmes étudiés. Elle permet l'association physique entre la chromatine, la lamine et les protéines à domaine LEM (Margalit et al. 2005; Haraguchi et al. 2008; Gorjánác et al. 2007). Afin de tester son rôle potentiel dans la reformation de l'enveloppe d'intercinèse, j'ai déplété BAF-1 par RNAi. J'ai pu constater, dans ce contexte, la diminution de l'intensité des protéines à domaine LEM LEM-2 et EMR-1 de 92% ($p < 0,0001$) et 99% ($p < 0,0001$) respectivement. J'ai aussi observé une diminution du recrutement de la protéine SUN-1 de 73% ($p < 0,01$) (Figure R.3A, R.3B, R.3C). BAF-1 étant directement ou indirectement responsable du recrutement des protéines à domaine LEM et de SUN-1 au sein de l'enveloppe nucléaire, ces résultats ne permettent pas de déterminer l'effet de l'absence de BAF-1 sur l'enveloppe d'intercinèse. De plus, BAF-1 est une petite protéine de 90 acides aminés dont la déplétion par RNAi n'est jamais totalement pénétrante. En effet, chez *C. elegans*, les ARN double brins d'une longueur inférieure à 500 nucléotides déclenchent généralement une interférence à l'ARN peu efficace. Afin de palier à ce problème et d'analyser l'effet de l'absence totale de BAF-1 sur l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse, j'ai donc obtenu une lignée transgénique de *C. elegans* dans laquelle la protéine BAF-1 endogène est fusionnée avec un degron inducible à l'auxine (Auxin Inducible Degron, AID). J'ai ainsi combiné la déplétion de l'ARNm de BAF-1 par RNAi

avec la dégradation de la protéine restante par traitement à l'auxine, et analysé les ovocytes correspondants par une approche de microscopie électronique par SBF-SEM (Serial Block Face-Scanning Electron Microscopy). Cette approche permet d'acquérir la totalité du volume des chromosomes en cours de ségrégation avec une résolution de l'ordre de 10 nm en XY et de 30 nm en Z. J'ai ainsi pu segmenter et reconstruire en volume les deux lots de chromosomes en cours de ségrégation et la membrane d'intercinèse afin de comparer leur ultrastructure dans un ovocyte contrôle et après déplétion totale de BAF-1 (Figure R.3D). La segmentation de la totalité de la région du fuseau de l'ovocyte contrôle m'a permis de visualiser en 3 dimensions l'aspect de l'enveloppe d'intercinèse qui est majoritairement continue, malgré la présence de petites perforations réparties sur la surface de l'enveloppe. De manière inattendue, en absence totale de BAF-1 l'enveloppe d'intercinèse est toujours présente. Cependant, celle-ci a un aspect très fragmenté et semble moins dense. La comparaison des longueurs moyenne et totale des fragments de membrane formant l'enveloppe d'intercinèse, dans les ovocytes contrôles et en absence de BAF-1, confirme ces observations (Longueur totale de membrane : Contrôle=325,24 μm , en absence de BAF-1=183,82 μm ; Longueur moyenne de chaque fragment : Contrôle=4,336 μm , en absence de BAF-1=2,743 μm) (Figure R.3E et R.3F). Ce résultat suggère que BAF-1 contribue, mais n'est pas indispensable, au recrutement et à la fusion des membranes constituant l'enveloppe d'intercinèse. J'ai également observé qu'en absence de BAF-1, l'enveloppe d'intercinèse se reforme de manière symétrique sur les deux lots de chromosomes en cours de ségrégation (Figure R.3D, R.3E et R.3F). Cette observation suggère que BAF-1 est en partie responsable de l'asymétrie de formation de l'enveloppe d'intercinèse par un mécanisme restant à élucider.

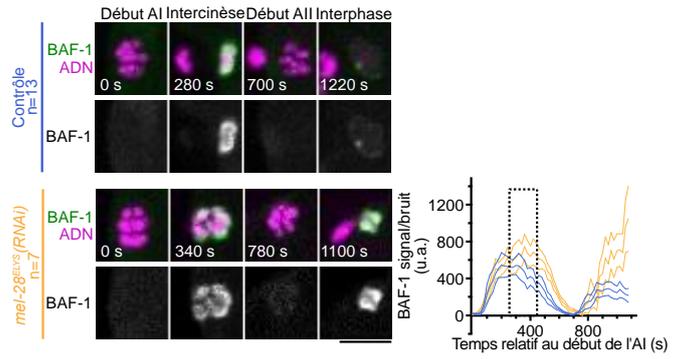
Enfin en absence de BAF-1 et en accord avec des études précédentes sur le rôle de BAF dans l'inhibition de la formation de micronoyaux en interphase, j'ai observé de nombreux fragments de membrane entre les chromosomes de chaque lot (Figure R.3D, flèches blanches) (Gorjánác et al. 2007; Samwer et al. 2017). BAF-1 permettrait donc d'éviter la formation de l'enveloppe d'intercinèse entre les chromosomes individuels de chaque lot en cours de ségrégation.

Figure R. 4

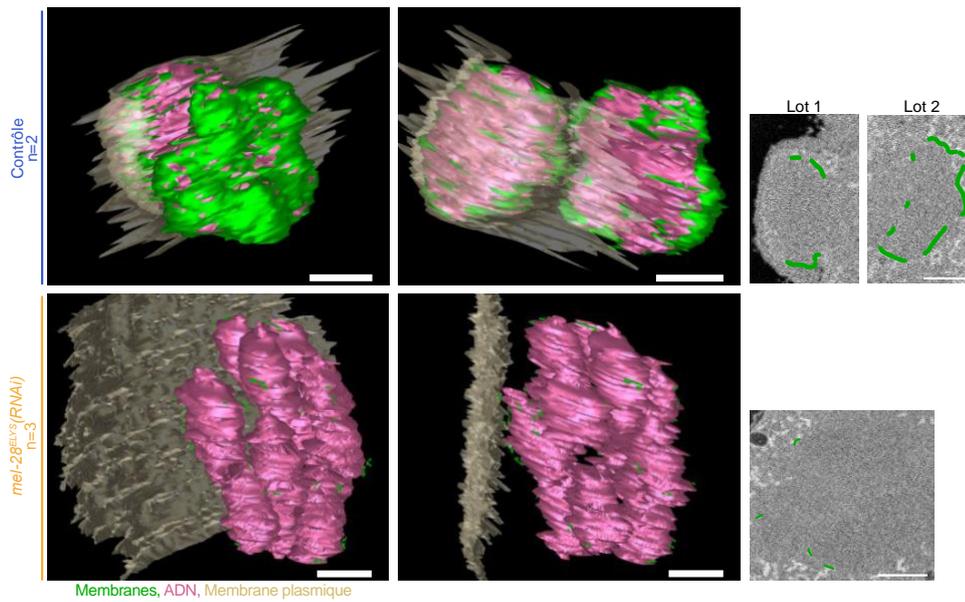
A



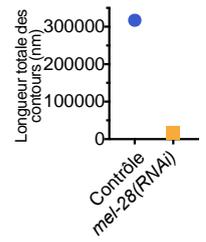
B



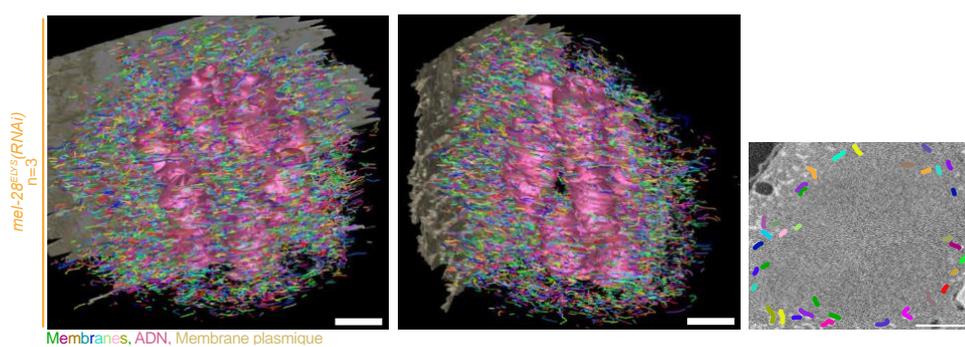
C



D



E



7. MEL-28 est essentielle à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse via la régulation des microtubules et des kinétochores

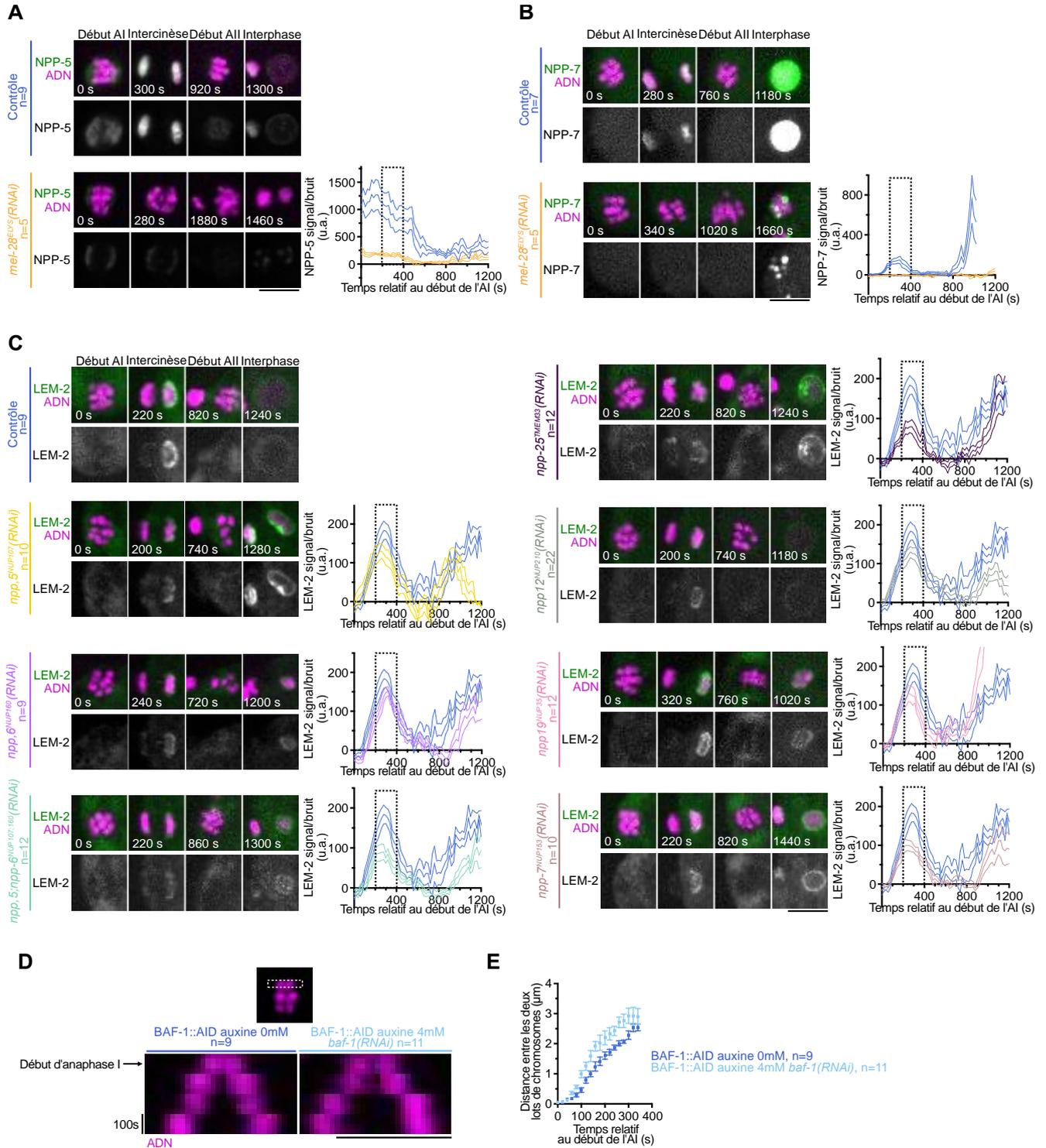
En anaphase I, MEL-28^{ELYS} joue un rôle essentiel dans la ségrégation des chromosomes. Elle est, en effet, essentielle au désassemblage des kinétochores via le recrutement de PP1 (Hattersley et al. 2016). Afin de tester le rôle de MEL-28^{ELYS} dans l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse, j'ai déplété MEL-28^{ELYS} par RNAi (Figure R.4A). J'ai tout d'abord confirmé le défaut de ségrégation des chromosomes en anaphase I et l'absence d'expulsion du premier globule polaire dans cette condition. J'ai également constaté que l'intensité de GFP::LEM-2 est significativement réduite de 88% dans cette condition ($p < 0,0001$). Mes observations précédentes montrent que le recrutement de GFP::LEM-2 à l'enveloppe d'intercinèse dépend de la présence de BAF-1 sur les chromosomes (Figure R.3A). GFP::BAF-1 étant présente à la surface des chromosomes en intercinèse dans les ovocytes traités par RNAi ciblant MEL-28^{ELYS} ($p = 0,6389$), l'absence de GFP::LEM-2 dans cette condition ne peut s'expliquer par un défaut de recrutement de BAF-1 (Figure R.4B). Alternativement, un défaut de formation de l'enveloppe d'intercinèse pourrait expliquer l'absence de GFP::LEM-2 à la surface des chromosomes. J'ai donc analysé des ovocytes après déplétion de MEL-28 par l'approche de microscopie électronique par SBF-SEM (Figure R.4C). Après segmentation et reconstruction tridimensionnelle, j'ai constaté qu'en absence de MEL-28^{ELYS}, la quantité de membranes en contact avec les chromosomes est dramatiquement réduite (Longueur totale de membrane : Contrôle = 317,53 μm , en absence de MEL-28^{ELYS} = 17,58 μm) (Figure R.4D). J'ai par ailleurs observé la présence de très nombreux fragments de membranes à distance des chromosomes (Figure R.4E). Cette zone correspond également à une région d'exclusion de toutes les organelles (vésicules, réticulum endoplasmique, ...), et est donc réminiscente de la zone d'exclusion physique formée par les microtubules du fuseau en métaphase. En absence de MEL-28^{ELYS}, de nombreux microtubules ectopiques persistent autour des chromosomes en anaphase/telophase I (Hattersley et al. 2016). Les microtubules pourraient donc agir comme une barrière physique empêchant le recrutement des membranes et donc l'accumulation de GFP::LEM-2 à la surface des chromosomes en cours de ségrégation.

Afin de tester cette hypothèse, j'ai combiné la déplétion de MEL-28^{ELYS} avec un traitement à forte dose de nocodazole afin de dépolymériser totalement les microtubules après le démarrage de l'anaphase I (Figure R.4A). Dans cette condition et malgré l'absence de MEL-28, le recrutement de GFP::LEM-2 est partiellement restauré (diminution de l'intensité de GFP::LEM-2 de 56% contre 88% en présence de microtubules ectopiques, $p=0.0016$). Le recrutement de GFP::LEM-2 est donc partiellement sauvé par l'absence de microtubules, en absence de MEL-28.

En absence de MEL-28^{ELYS}, les kinétochores persistent à la surface des chromosomes pendant l'anaphase/télophase I (Hattersley et al. 2016). Ces kinétochores persistants pourraient donc également représenter une barrière à la formation de l'enveloppe d'intercinèse. Afin de tester cette hypothèse, j'ai co-déplété MEL-28^{ELYS} et KNL-3^{Dsn1}, une protéine d'architecture des kinétochores externes, par RNAi et analysé l'intensité de GFP::LEM-2 à la surface des chromosomes après le début de l'anaphase (Figure R.4A). Là encore, le recrutement de GFP::LEM-2 est partiellement sauvé par l'absence de kinétochores persistants, en absence de MEL-28^{ELYS} (diminution de l'intensité de GFP::LEM-2 de 59% contre 88% en présence de kinétochores persistants, $p=0.0021$). Les conclusions liées à ce résultat sont néanmoins à nuancer, car la déplétion de KNL-3 entraîne une diminution de la densité des microtubules du fuseau liée à l'absence d'attachement des microtubules aux kinétochores (Cheeseman et al. 2004). L'effet de la déplétion de KNL-3 sur le recrutement de GFP::LEM-2 pourrait donc être due à un effet indirect sur la densité des microtubules ectopiques en absence de MEL-28^{ELYS}.

L'ensemble de mes observations permettent de conclure que MEL-28^{ELYS} régule partiellement la formation de l'enveloppe d'intercinèse via son effet sur la densité des microtubules entourant les chromosomes en anaphase, qui pourrait être lié à son rôle dans le désassemblage des kinétochores après le début de l'anaphase I.

Figure R. 5



8. MEL-28 est essentielle à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse via le recrutement de nucléoporines

MEL-28^{ELYS} est une protéine clé de la reformation des pores et de l'enveloppe nucléaires. Après sa liaison à la chromatine, MEL-28^{ELYS} recrute les autres membres du complexe Y (Franz et al. 2007; Rasala et al. 2006; Galy et al. 2006). Puis les nucléoporines du complexe transmembranaire sont recrutées afin d'établir le lien entre le pore nucléaire en formation et l'enveloppe nucléaire. Elles sont suivies par les nucléoporines de l'anneau interne, puis par celles des autres sous-complexes (Schellhaus, De Magistris, et Antonin 2016). Afin de déterminer si les nucléoporines présentes en intercinèse sont recrutées par MEL-28^{ELYS}, j'ai déplété MEL-28^{ELYS} dans la lignée GFP:: $NPP-5^{NUP107}$ du complexe Y et GFP:: $NPP-7^{NUP153}$ du panier nucléaire. Le recrutement de ces deux nucléoporines est significativement diminué en absence de MEL-28^{ELYS} (réduction de 82% de GFP:: $NPP-5^{NUP107}$ ($p=0,0002$) et de 91% de GFP:: $NPP-7^{NUP153}$ ($p=0,0004$)) comparé aux ovocytes contrôles (Figure R.5A et R.5B). Ce résultat démontre qu'en intercinèse, comme en sortie de mitose, MEL-28^{ELYS} est en amont du recrutement de $NPP-5^{NUP107}$ et $NPP-7^{NUP153}$.

La présence de plusieurs nucléoporines dans l'enveloppe d'intercinèse, pourtant dépourvue de pores nucléaires, suggère qu'elles pourraient jouer un rôle atypique dans la formation de cette enveloppe. Afin d'étudier la contribution potentielle des nucléoporines présentes en intercinèse, j'ai donc testé par RNAi l'effet de la déplétion de certaines d'entre elles sur le recrutement de GFP:: $LEM-2$ à la surface des chromosomes en cours de ségrégation (Figure R.5C). Alors que les déplétions simples de $NPP-5^{NUP107}$ et $NPP-6^{NUP160}$ n'ont pas d'effet significatif sur l'intensité de GFP:: $LEM-2$, leur co-déplétion induit une diminution de moitié de cette intensité (réduction de 50% de GFP:: $LEM-2$, $p=0.0041$). $NPP-5^{NUP107}$ et $NPP-6^{NUP160}$, toutes deux membres du complexe Y, ont donc un rôle redondant dans le recrutement de GFP:: $LEM-2$, et donc probablement dans l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse. J'ai obtenu un résultat similaire après déplétion des nucléoporines $NPP-25^{TMEM33}$ du complexe transmembranaire (réduction de 58%, ($p=0.0007$)) et $NPP-7^{NUP153}$ du panier nucléaire (réduction de 45%, ($p=0.0057$)). Les déplétions de $NPP-12^{NUP210}$ du complexe transmembranaire et de $NPP-19^{NUP35}$ de l'anneau interne conduisent également à une diminution de l'intensité de GFP:: $LEM-2$ (de 31%

($p=0.0736$) et 29% ($p=0.0955$) respectivement). Ces diminutions ne sont néanmoins pas significatives. Ces résultats permettent de conclure que les nucléoporines NPP-5/-6^{NUP107/160}, NPP-25^{TMEM33} et NPP-7^{NUP153} participent au recrutement de GFP::LEM-2 à la surface des chromosomes en cours de ségrégation, et donc potentiellement à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse. Il serait intéressant d'analyser directement la formation de l'enveloppe d'intercinèse en absence de ces nucléoporines par une approche de microscopie électronique par SBF-SEM.

L'ensemble de mes observations permettent de conclure que MEL-28^{ELYS} régule partiellement la formation de l'enveloppe d'intercinèse via le recrutement des nucléoporines NPP-5/-6^{NUP107/160} et NPP-7^{NUP153} et potentiellement NPP-25^{TMEM33}.

9. L'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse est essentielle à la ségrégation des chromosomes

Mon équipe d'accueil a décrit un mécanisme atypique de ségrégation des chromosomes kinétochore-indépendant dans l'ovocyte de *C. elegans*. Ce mécanisme fait intervenir les microtubules du fuseau central d'anaphase qui poussent les chromosomes en cours de ségrégation (Laband et al. 2017). L'enveloppe d'intercinèse s'assemble au cours de la ségrégation des chromosomes et pourrait donc jouer un rôle mécanique dans ce processus. Afin de déterminer le rôle potentiel de cette enveloppe, j'ai comparé la distance au cours du temps entre les deux lots de chromosomes en cours de ségrégation dans les ovocytes AID::BAF-1 en présence ou en absence de traitement à l'auxine (Figure R.5D et R.5E). De manière intéressante, en absence totale de BAF-1 et donc lorsque l'enveloppe d'intercinèse est fragmentée, les chromosomes se séparent plus rapidement et avec une amplitude plus élevée que dans les ovocytes contrôles. L'enveloppe d'intercinèse pourrait donc jouer un rôle mécanique durant la ségrégation des chromosomes en ralentissant leur ségrégation par le mécanisme de poussée. Le phénotype sévère de défaut de ségrégation des chromosomes en absence de MEL-28^{ELYS}, lié à l'absence de recrutement de PP1, ne me permet malheureusement pas de tester l'effet d'une absence totale d'enveloppe d'intercinèse.

Légendes de figures :

Figure R.1 : L'enveloppe d'intercinèse se forme transitoirement entre l'anaphase I et l'entrée en méiose II

(A-B) : Coupes de microscopie électronique en tomographie de fuseau en milieu d'anaphase I (A), et en intercinèse (B). Les chromosomes sont segmentés en magenta et les membranes en vert. Chaque coupe est accompagnée d'un schéma du stade correspondant (haut), et l'agrandissement d'une zone d'intérêt (droite). (C) Dynamique de recrutement de GFP::LEM-2 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants en méiose I à partir du début de l'anaphase I (haut) et en méiose II à partir du début de l'anaphase II (bas) (n=11). Les flèches en cyan désignent la « plaque » de GFP::LEM-2. (D) Immunomarquage de CHMP-7 (haut), et VPS-32 (bas) en interphase et en intercinèse. Les flèches en jaune désignent la localisation de VPS-32 en interphase. (E) Dynamique de recrutement de GFP::LEM-2 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants contrôles (haut) et *lin-5(RNAi)* (bas) avec les schémas correspondants (gauche) et les quantifications de l'intensité du signal GFP::LEM-2 au niveau des lots 1 et 2 (droite) à 260s. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard. Test de Mann-Whitney, valeur $p < 0,0001$. (F) Dynamique de recrutement de GFP::LEM-2 par vidéomicroscopie d'ovocytes contrôles (haut) et d'ovocytes traités à la colchicine à 100 μ m (bas) avec les schémas correspondants (gauche) et les quantifications de l'intensité par balayage de ligne (line-scan) de l'intensité de GFP::LEM-2 et de l'ADN à 200s dans les ovocytes contrôles et dans les ovocytes traités à la colchicine. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. Les barres d'échelle correspondent à 5 μ m pour les images de vidéomicroscopies et 1 μ m pour la microscopie électronique.

Figure R.2 : L'enveloppe d'intercinèse se compose de protéines de la lamine périphérique et de protéines de pores nucléaires

(A) Localisation des protéines de la lamine périphérique GFP::EMR-1, GFP::BAF-1, GFP::LMN-1, SUN-1::GFP, GFP::LMN-1 et des protéines de la membrane nucléaire externe GFP::ZYG-12 et GFP::SP-12 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants avec les schémas correspondants (gauche). (B) Localisation des protéines des pores nucléaires GFP::MEL-28,

GFP::NPP-5, GFP::NPP-13, LAP::NPP-19, NPP-1::GFP, NPP-11::GFP, GFP::NPP-7, NPP-21::GFP, GFP::NPP-24, GFP::NPP-12, GFP::NPP-22, GFP::NPP-25 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants avec les schémas correspondants (gauche). Les barres d'échelle correspondent à 5µm.

Figure R.3 : BAF-1 est essentielle à la localisation des protéines de la MN interne et l'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse

(A-C) Localisation en début d'anaphase I, en intercinèse, en début d'anaphase II et en interphase de GFP::LEM-2 (A), GFP::EMR-1 (B), GFP::SUN-1 (C) par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants contrôles et *baf-1(RNAi)* avec les quantifications de l'intensité du signal au niveau du lot 2 à partir du début de l'anaphase I (bas). Le contrôle est représenté en bleu foncé et *baf-1(RNAi)* en bleu clair. Les pointillés délimitent l'intercinèse. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. (D) Reconstruction en 3 dimensions d'un ovocyte contrôle AID::BAF-1 (haut) et d'un ovocyte AID::BAF-1 *baf-1(RNAi)* traité à l'auxine 4mM sur la nuit (bas) avec des coupes montrant les lots 1 et 2 (droite). Les chromosomes sont en magenta, les membranes en vert et la membrane plasmique en beige. Les flèches blanches désignent les membranes à l'intérieur des lots de chromosomes. (E-F) Longueur totale (E) et longueur moyenne (F) des contours autour du lot 1 et du lot 2 dans le contrôle AID::BAF-1 (bleu foncé) et dans l'ovocyte AID::BAF-1 *baf-1(RNAi)* traité à l'auxine 4mM sur la nuit (bleu clair). Les barres d'échelle correspondent à 5µm pour les images de vidéomicroscopies et 1µm pour la microscopie électronique

Figure R.4 : MEL-28 est essentielle au recrutement de l'enveloppe d'intercinèse et à la localisation de GFP::LEM-2 via la régulation des kinétochores et des microtubules

(A) Localisation en début d'anaphase I, en intercinèse, en début d'anaphase II et en interphase de GFP::LEM-2 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants contrôles et d'ovocytes *mel-28(RNAi)*, *mel-28(RNAi)* traités au nocodazole 100ng/ul et *mel-28;knl-3(RNAi)* avec les quantifications de l'intensité du signal au niveau du lot 2 à partir du début de l'anaphase I (droite). Le contrôle est représenté en bleu foncé, *mel-28(RNAi)* en orange, *mel-28(RNAi)* traités au nocodazole 100ng/ul en marron et *mel-28;knl-3(RNAi)* en vert. Les pointillés délimitent l'intercinèse. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. (B) Localisation en début d'anaphase I, en intercinèse, en début d'anaphase

Il et en interphase de GFP::BAF-1 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants contrôles et d'ovocytes *mel-28(RNAi)* avec la quantification de l'intensité du signal au niveau du lot 2 à partir du début de l'anaphase I (droite). Le contrôle est représenté en bleu foncé et *mel-28(RNAi)* en orange. Les pointillés délimitent l'intercinèse. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. (C) Reconstruction en 3 dimensions d'un ovocyte contrôle (haut) et d'un ovocyte *mel-28(RNAi)* (bas) avec des coupes montrant les lots 1 et 2 (droite). Les chromosomes sont en magenta, les membranes en contact avec les chromosomes en vert et la membrane plasmique en beige. (D) Longueur totale des contours dans le contrôle (bleu foncé) et dans l'ovocyte *mel-28(RNAi)* (orange). (E) Reconstruction en 3 dimensions d'un ovocyte *mel-28(RNAi)*. Les chromosomes sont en magenta, la membrane plasmique en beige et les membranes autour du fuseau en couleurs. Les barres d'échelle correspondent à 5µm pour les images de vidéomicroscopies et 1µm pour la microscopie électronique

Figure R.5 : NPP-5/-6, NPP-7 et NPP-25 contribuent au recrutement de GFP::LEM-2 en intercinèse

(A-B) Localisation en début d'anaphase I, en intercinèse, en début d'anaphase II et en interphase de GFP::NPP-5 (A) et GFP::NPP-7 (B) par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants contrôles et d'ovocytes *mel-28(RNAi)* avec les quantifications de l'intensité du signal au niveau du lot 2 à partir du début de l'anaphase I (droite). Le contrôle est représenté en bleu foncé et *mel-28(RNAi)* en orange. Les pointillés délimitent l'intercinèse. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. (C) Localisation en début d'anaphase I, en intercinèse, en début d'anaphase II et en interphase de GFP::LEM-2 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants contrôles et d'ovocytes *npp-5(RNAi)*, *npp-6(RNAi)*, *npp-5;npp-6(RNAi)*, *npp-25(RNAi)*, *npp-12(RNAi)*, *npp-19(RNAi)* et *npp-7(RNAi)* avec les quantifications de l'intensité du signal au niveau du lot 2 à partir du début de l'anaphase I (droite). Le contrôle est représenté en bleu foncé et *npp-5(RNAi)* en jaune, *npp-6(RNAi)* en mauve, *npp-5;npp-6(RNAi)* en turquoise, *npp-25(RNAi)* en bordeaux, *npp-12(RNAi)* en gris, *npp-19(RNAi)* en rose et *npp-7(RNAi)* en rose foncé. Les pointillés délimitent l'intercinèse. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. (D) Kymographe d'un chromosome à partir du début de l'anaphase I d'un ovocyte contrôle AID::BAF-1 et un ovocyte AID::BAF-1

baf-1(RNAi) traité à l'auxine 4mM. (E) La distance entre les deux lots de chromosomes à partir du début de l'anaphase I dans le contrôle AID ::BAF-1 (bleu foncé) et dans l'ovocyte AID::BAF-1 *baf-1(RNAi)* traité à l'auxine 4mM sur la nuit (bleu clair). Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. Les barres d'échelle correspondent à 5 μ m.

Discussion

Une enveloppe recouvrant les chromosomes se forme en intercinèse dans l'ovocyte

Il est généralement admis que l'enveloppe nucléaire ne se reforme pas en intercinèse, la courte phase entre la sortie de méiose I et l'entrée en méiose II (Wolff et al. 2016). Ce dogme s'appuie sur le fait que les chromosomes ne se décondensent pas en intercinèse et qu'il n'est donc pas nécessaire de reformer une enveloppe nucléaire. Avant mon arrivée au laboratoire, mon équipe d'accueil avait observé la présence d'une enveloppe recouvrant les chromosomes condensés en cours de ségrégation en anaphase I dans les ovocytes de *C. elegans* (Laband et al. 2017). Ces résultats ont ensuite été confirmés par une observation de microscopie électronique dans une publication de Penfield et al. . Cette étude visait à étudier les mécanismes de reformation de l'enveloppe nucléaire en télophase II, à la sortie de méiose. L'observation de la présence d'une structure de type « enveloppe nucléaire » en intercinèse n'y était d'ailleurs évoquée que de manière anecdotique. Durant ma thèse, j'ai donc tenté de confirmer la présence d'une telle structure et d'en étudier les caractéristiques. Bien que cette enveloppe ne soit pas « nucléaire », puisqu'elle ne sert pas à compartimenter un noyau, elle partage néanmoins plusieurs caractéristiques communes avec l'enveloppe nucléaire, et notamment sa structure en double membrane. J'ai, pour cette raison, décidé de la nommer « enveloppe d'intercinèse ».

J'ai pu démontrer que l'enveloppe d'intercinèse s'assemble initialement sur la surface externe du lot de chromosomes qui va poursuivre sa ségrégation en méiose II, avant de recouvrir quasi totalement la surface de ce lot. A la différence de l'enveloppe nucléaire, l'enveloppe d'intercinèse ne se scelle par contre jamais totalement et n'est pas en continuité avec le réticulum endoplasmique.

Elle est composée de protéines de la lamine périphérique (BAF-1, LEM-2, EMR-1, SUN-1 et LMN-1) et est dépourvue de protéines de la MN externe (ZYG-12 et SP-12). Bien que les pores nucléaires soient absents de l'enveloppe d'intercinèse, certaines nucléoporines s'y localisent (MEL-28^{ELYS}, NPP-5^{NUP107} et NPP-6^{NUP160} du complexe Y, NPP-7^{NUP153} du panier nucléaire, NPP-19^{NUP35} du canal central et NPP-12^{NUP210} et NPP-25^{TMEM33} du complexe transmembranaire). L'analyse fonctionnelle m'a permis d'identifier les rôles de la nucléoporine MEL-28^{ELYS} et de la protéine de liaison à la chromatine BAF-1 dans la reformation de l'enveloppe d'intercinèse (Figure D.1). MEL-28^{ELYS} participe à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse via la régulation des kinétochores et des microtubules, mais également via le recrutement des nucléoporines NPP-5^{NUP107}, NPP-7^{NUP153} et, potentiellement, NPP-25^{TMEM33}. BAF-1 participe à l'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse en participant à la fusion des membranes la composant. Enfin, mes données fonctionnelles m'ont également permis d'identifier le rôle potentiel de l'enveloppe d'intercinèse dans le contrôle de la vitesse et de l'étendu de la ségrégation des chromosomes en anaphase/télophase I.

La régulation de l'enveloppe d'intercinèse par les microtubules

Dans plusieurs modèles, les microtubules du fuseau de division et l'enveloppe nucléaire en cours de reformation ont des rôles antagonistes. Les microtubules ne sont pas nécessaires pour assembler l'enveloppe nucléaire (Samwer et al. 2017), au contraire leur dépolymérisation est requise pour la reformation d'une enveloppe nucléaire intègre et pour la phase finale de scellement de l'enveloppe (Xue et al. 2013; Vietri et al. 2015).

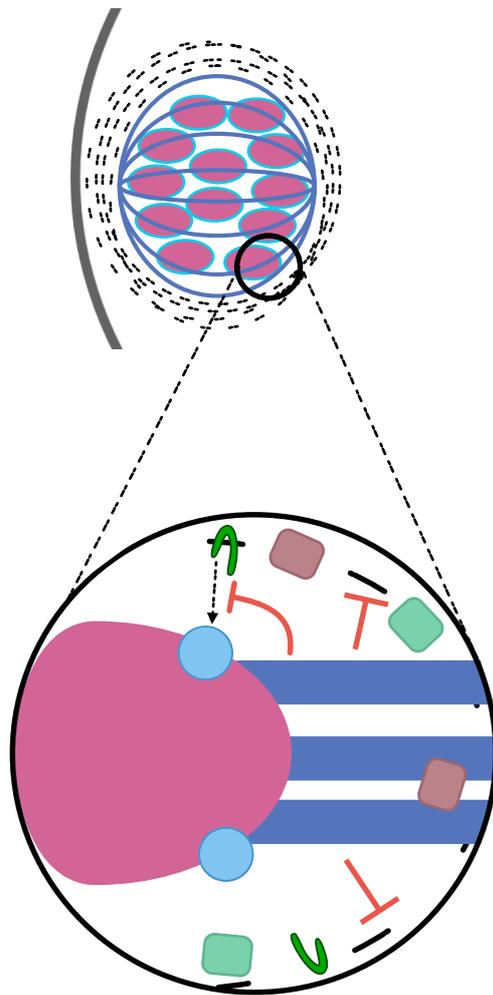
Mes observations en intercinèse sont en accord avec ces résultats concernant l'enveloppe nucléaire. En effet, l'enveloppe d'intercinèse est initialement exclue de la face interne des lots de chromosomes en cours de ségrégation, où se concentrent les microtubules du fuseau central méiotique (Figure R.1F). De manière intéressante, en présence d'une faible dose de colchicine, qui dépolymérise partiellement le fuseau central méiotique, le recrutement du marqueur GFP::LEM-2 s'opère précocement et de manière plus symétrique (Figure R.1G).

Ce résultat suggère que l'enveloppe d'intercinèse s'assemble plus précocement sur les faces externe et interne des chromosomes en cours de ségrégation lorsque la densité des microtubules du fuseau central est réduite. Les microtubules du fuseau central méiotique agiraient donc comme un frein à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse sur la face interne des chromosomes en cours de ségrégation.

Une seconde observation met en évidence le lien antagoniste entre les microtubules et l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse. En effet, en absence de MEL-28^{ELYS}, j'ai constaté une absence totale de GFP::LEM-2 corrélant avec un défaut complet d'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse (Figure R.4A, R.4C). Bien que mes résultats d'analyse fonctionnelle suggèrent que le rôle de MEL-28^{ELYS} dans l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse soit probablement multifactorielle (voir plus bas), la présence ectopique de microtubules au niveau de la face externe des chromosomes, dans cette condition, explique sans doute partiellement le défaut de recrutement de GFP::LEM-2 et de formation de l'enveloppe d'intercinèse. J'ai, en effet, pu montrer qu'en présence de nocodazole, le phénotype d'absence de recrutement de GFP::LEM-2 après déplétion de MEL-28^{ELYS} pouvait être partiellement sauvé. D'une manière générale, ces résultats suggèrent que la présence de microtubule a une action inhibitrice sur le recrutement de GFP::LEM-2, et donc probablement sur l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse. Les mécanismes moléculaires sous-jacents restent par contre inconnus.

La proximité du cortex ovocytaire inhibe la formation de l'enveloppe d'intercinèse

La formation de l'enveloppe d'intercinèse et le recrutement de GFP::LEM-2 sont asymétriques et s'opèrent principalement sur le lot de chromosomes maintenu dans l'ovocyte à l'issue de la méiose I. Mes résultats suggèrent que l'asymétrie de recrutement de GFP::LEM-2 est due à la proximité de la membrane plasmique, puisqu'en absence de rotation du fuseau, GFP::LEM-2 est recrutée de manière symétrique sur les deux lots de chromosomes en cours de ségrégation (Figure R.1E).



- En absence de MEL-28 :
- L'enveloppe d'intercinèse ne se reforme pas à la surface des chromosomes.
 - Les microtubules et les kinétochores inhibent partiellement son recrutement.
 - NPP-5 et NPP-7 ne sont pas recrutées à la surface des chromosomes

Figure D. 2 : Schéma récapitulatif des rôles de MEL-28 en intercinèse

Soit la proximité des chromosomes avec la membrane plasmique est telle, que celle-ci agit comme une barrière physique au recrutement de membranes pour la formation de l'enveloppe d'intercinèse, soit un signal émanant de la membrane plasmique inhibe cette formation. Là encore, les mécanismes moléculaires sous-jacents sont inconnus.

De manière intéressante, cette asymétrie concerne également la localisation des protéines BAF-1, NPP-25^{TMEM33}, NPP-12^{NUP210}, NPP-19^{NUP35}, EMR-1 et SUN-1 qui sont recrutées exclusivement sur le lot de chromosomes maintenus dans l'ovocyte, mais pas sur le lot de chromosomes expulsé dans le globule polaire. MEL-28^{ELYS} et les nucléoporines NPP-5^{NUP107}, NPP-6^{NUP160} et NPP-7^{NUP153} sont quant à elles recrutées de manière symétrique sur les deux lots de chromosomes.

Il serait intéressant de tester si une symétrisation des localisations de BAF-1, NPP-25^{TMEM33}, NPP-12^{NUP210}, NPP-19^{NUP35}, EMR-1 et SUN-1 est observée en absence de rotation du fuseau. Une telle symétrisation pourrait permettre d'identifier une (des) cible(s) d'un potentiel signal inhibiteur émanant de la membrane plasmique.

Rôle de MEL-28^{ELYS} dans l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse

Mes résultats suggèrent que l'absence de formation de l'enveloppe d'intercinèse, corrélant avec le défaut de recrutement de GFP::LEM-2, est due, d'une part au rôle de MEL-28^{ELYS} dans la régulation du désassemblage des kinétochores et/ou des microtubules des pôles du fuseau, et d'autre part au rôle de MEL-28^{ELYS} dans le recrutement de certaines nucléoporines (Figure D.2).

Désassemblage des kinétochores et des microtubules des pôles du fuseau et formation de l'enveloppe d'intercinèse

Les kinétochores holocentriques de *C. elegans* forment un complexe multiprotéique qui se localise à la surface de chaque chromosome. Après le début de l'anaphase I, le recrutement de la protéine phosphatase PP1 par MEL-28^{ELYS} induit le désassemblage des kinétochores via un mécanisme moléculaire inconnu (Hattersley et al. 2016).

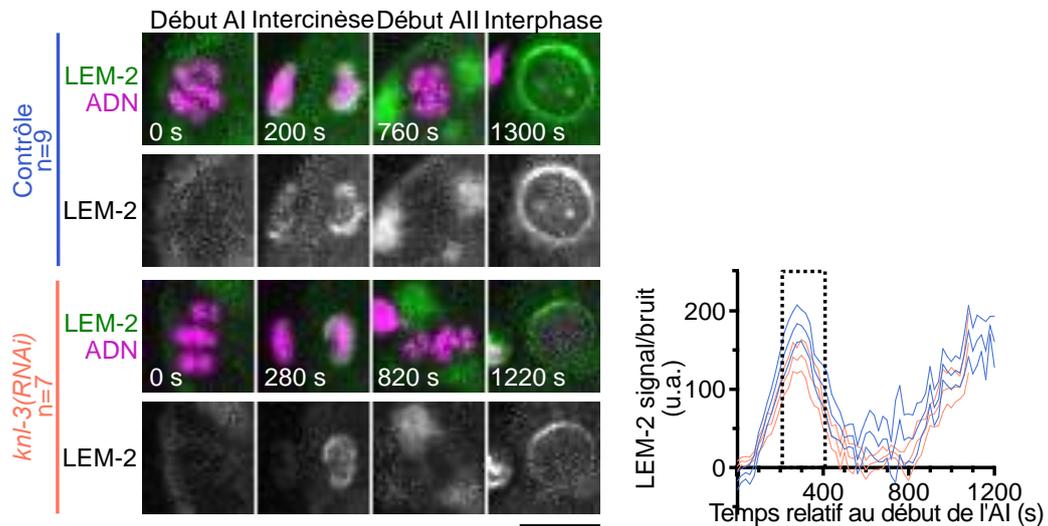


Figure D. 3 : Le recrutement de GFP::LEM-2 n'est pas accéléré en absence de kinétochores

Localisation en début d'anaphase I, en intercinèse, en début d'anaphase II et en interphase de GFP::LEM-2 par vidéomicroscopie d'ovocytes vivants contrôles et d'ovocytes *knl-3(RNAi)* avec la quantification de l'intensité du signal au niveau du lot 2 à partir du début de l'anaphase I (droite). Le contrôle est représenté en bleu foncé et *knl-3(RNAi)* en rouge. Les pointillés délimitent l'intercinèse. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne. La barre d'échelle correspond à 5 μm .

En absence de MEL-28^{ELYS}, les kinétochores persistent à la surface des chromosomes après le début de l'anaphase I, tandis que de nombreux microtubules ectopiques sont observés au niveau des pôles du fuseau de méiose I pendant toute l'anaphase/télophase I (Hattersley et al. 2016). D'un point de vue cinétique, l'initiation du désassemblage des kinétochores et de la persistance des microtubules polaires ectopiques corrélient avec l'initiation du recrutement de GFP::LEM-2 sur les chromosomes. Le défaut de formation de l'enveloppe d'intercinèse observé en absence de MEL-28^{ELYS} pourrait donc être induit par la persistance des kinétochores à la surface des chromosomes, qui agiraient telle une barrière physique, ou par la présence de microtubules polaires ectopiques (voir plus haut, expériences de dépolymérisation partielle des microtubules). Mes résultats ne permettent pas de trancher entre ces deux hypothèses. En effet, bien que la déplétion de KNL-3, induisant une absence de kinétochores, permettent de sauver partiellement l'absence de recrutement de GFP::LEM-2 à l'enveloppe d'intercinèse liée à la déplétion de MEL-28^{ELYS}, celle-ci s'accompagne également d'une réduction de la densité des microtubules du fuseau (Cheeseman et al. 2004). Le sauvetage du recrutement de GFP::LEM-2 peut donc s'expliquer soit par l'absence des kinétochores persistants en anaphase/télophase I, soit par la réduction de la densité des microtubules polaires ectopiques, soit par une combinaison des deux facteurs. De manière intéressante en présence de MEL-28^{ELYS}, la cinétique de recrutement de GFP::LEM-2 n'est pas accélérée en absence de kinétochore (après traitement par *knl-3(RNAi)*) (Figure D.3). Les kinétochores ne contrôlent donc pas la cinétique de l'initiation de l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse et ne représentent donc pas une barrière physique à sa formation précoce.

Recrutement des nucléoporines en aval de MEL-28^{ELYS} et formation de l'enveloppe d'intercinèse

En sortie de mitose, MEL-28^{ELYS} se lie à la chromatine en cours de décondensation et est en amont du recrutement de l'ensemble des nucléoporines à l'enveloppe nucléaire en formation. En particulier, les nucléoporines du complexe Y, dont NPP-5^{NUP107} et NPP-6^{NUP160}, sont directement recrutées en aval de MEL-28^{ELYS} lors de la reformation des pores

nucléaires (Franz et al. 2007; Rasala et al. 2006; Galy et al. 2006). Leur déplétion perturbe la formation des pores, l'expansion nucléaire et entraîne des défauts de ségrégation des chromosomes (Walther et al. 2003; Orjalo et al. 2006; Boehmer et al. 2003). Mes résultats montrent qu'en intercinèse, MEL-28^{ELYS} est nécessaire au recrutement, à la surface des chromosomes en cours de ségrégation, des nucléoporines NPP-5^{NUP107} et NPP-7^{NUP153} du panier nucléaire. J'ai également montré qu'en absence des nucléoporines NPP-5/-6^{NUP107/160} redondantes, NPP-7^{NUP153} ou NPP-25^{TMEM33}, l'intensité de recrutement de GFP::LEM-2 est significativement réduite. Ce n'est, par contre, pas le cas en absence de NPP-12^{NUP210} et NPP-19^{NUP35}. Il serait intéressant de tester si le recrutement de NPP-25^{TMEM33} dépend également de MEL-28^{ELYS}, car l'intensité de GFP::LEM-2 est réduite à l'enveloppe d'intercinèse en son absence. L'ensemble de ces résultats suggèrent que MEL-28^{ELYS} pourrait réguler le recrutement de GFP::LEM-2, et la formation de l'enveloppe d'intercinèse, via le recrutement des nucléoporines NPP-5/-6^{NUP107/160} et NPP-7^{NUP153} (et potentiellement NPP-25^{TMEM33}).

Contribution des nucléoporines dans la formation de l'enveloppe d'intercinèse

Mes résultats en intercinèse démontrent que NPP-5/-6^{NUP107/160} redondantes, NPP-7^{NUP153} et NPP-25^{TMEM33} sont essentielles au recrutement de GFP::LEM-2 et donc potentiellement à l'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse. Ces nucléoporines contribuent en mitose et en interphase à établir le lien entre les pores nucléaires en formation et l'enveloppe nucléaire. En effet, NPP-5^{NUP107} et NPP-6^{NUP160} sont requises pour lier les pores nucléaires en formation aux membranes, et ce via le recrutement de nucléoporines du complexe transmembranaire (Walther et al. 2003; Orjalo et al. 2006; Boehmer et al. 2003; Antonin et al. 2005). C'est le cas notamment de NUP160^{NPP-6} qui recrute POM121 du complexe transmembranaire (Mitchell et al. 2010). En plus de cette interaction indirecte avec les membranes, NUP160^{NPP-6} possède un motif ALPS qui lui permettrait de se lier directement aux membranes (Hamed et Antonin 2021). NUP153^{NPP-7} du panier nucléaire est essentielle à l'assemblage des pores nucléaires en interphase.

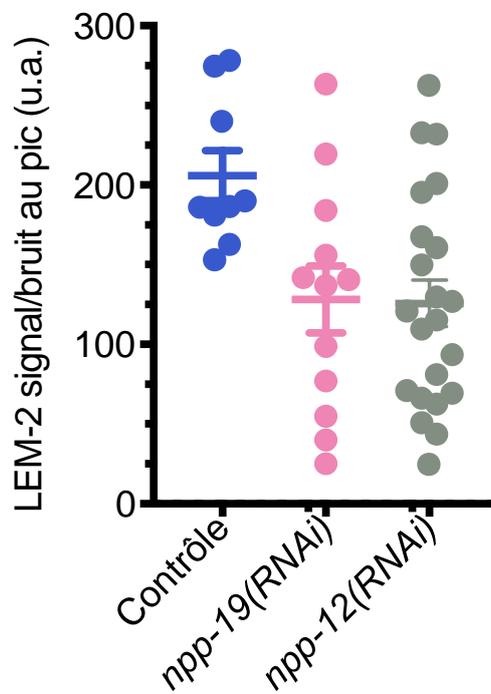


Figure D. 4 : Variabilité des échantillons après la déplétion de NPP-12 et NPP-19 par ARN interférents.

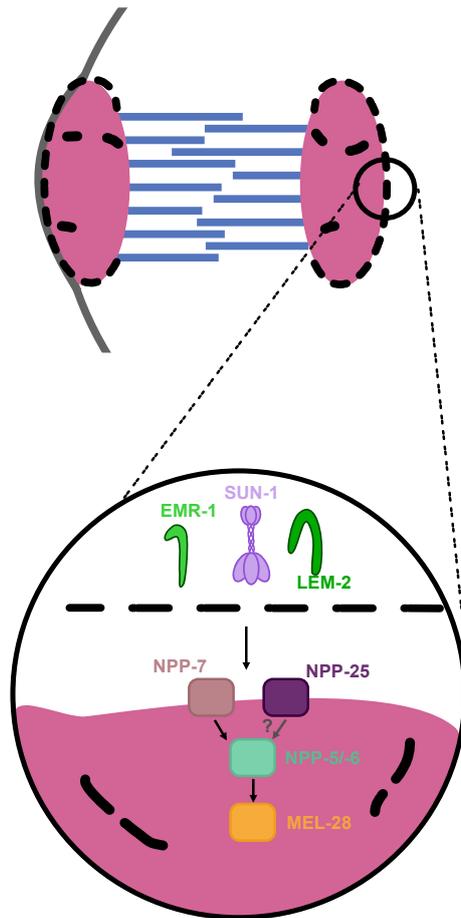
Valeurs maximums de l'intensité de GFP ::LEM-2 en intercinèse dans des ovocytes contrôles, *npp-19(RNAi)* et *npp-12(RNAi)*. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne

Elle se lie à la MN interne via son domaine N-terminal pour y recruter le complexe Y (Vollmer et al. 2015). Enfin, TMEM33^{NPP-25} est une nucléoporine du complexe transmembranaire qui possède également en son domaine C-terminal un domaine de liaison aux membranes essentiel à sa localisation à l'enveloppe (Floch et al. 2015). Ces interactions directes et indirectes entre NPP-5/-6^{NUP107/160}, NPP-7^{NUP153} et NPP-25^{TMEM33} pourraient expliquer comment ces nucléoporines contribuent au recrutement de GFP::LEM-2 et potentiellement des membranes formant l'enveloppe d'intercinèse. Il serait donc intéressant de tester si en absence de ces nucléoporines en intercinèse, la diminution de signal de GFP::LEM-2 est corrélée avec un défaut de recrutement des membranes à la surface des chromosomes.

En intercinèse, j'ai observé la localisation de NPP-12^{NUP210} du complexe transmembranaire et NPP-19^{NUP35} de l'anneau interne. Elles possèdent toutes les deux des domaines d'interaction avec les membranes (Vollmer et al. 2012; Greber, Senior, et Gerace 1990). Contrairement à NPP-5/-6^{NUP107/160}, NPP-7^{NUP153} et NPP-25^{TMEM33}, NPP-12^{NUP210} et NPP-19^{NUP35} induisent chacune une diminution non significative de GFP::LEM-2. Cette « non-significativité » est due à une grande variabilité dans mes échantillons (Figure D.4). Cette variabilité pourrait être due à un défaut d'efficacité de l'ARN interférent. Il serait intéressant de tester l'efficacité de l'ARN interférent avant d'éliminer leur potentielle contribution dans le recrutement de GFP::LEM-2 en intercinèse.

L'enveloppe d'intercinèse est dépourvue de pores nucléaires

J'ai observé par microscopie électronique en tomographie et SBF-SEM que l'enveloppe d'intercinèse est dépourvue de pores nucléaires bien que MEL-28^{ELYS} et d'autres nucléoporines y sont présentes (Figures R.1B et R.2B, (Penfield et al. 2020)). Il serait intéressant de comprendre pourquoi en intercinèse ces nucléoporines ne participent pas à la reformation de pores nucléaires. Lors de la reformation de l'enveloppe nucléaire en fin de mitose, bloquer l'assemblage des pores après le recrutement du complexe Y affecte l'intégrité de l'enveloppe nucléaire. Par exemple, la déplétion de POM121 du complexe



En absence de **BAF-1**,
 l'enveloppe d'intercinèse est
 fragmentée. **LEM-2**, **EMR-1** et
SUN-1 ne sont pas recrutées à
 la surface des chromosomes

Figure D. 5 : Schéma récapitulatif des rôles de BAF-1 en intercinèse

transmembranaire, qui est recrutée en aval du complexe Y, bloque la fusion des membranes et la reformation d'une enveloppe nucléaire « fermée » autour des chromosomes. Cependant, la co-déplétion de POM121 ainsi que NUP107^{NPP-5} sauve ce phénotype (Antonin et al. 2005). Cette observation suggère que la formation de pré-pores au niveau de l'enveloppe nucléaire bloque la fusion des membranes et la formation d'une enveloppe nucléaire continue et intègre. En intercinèse, malgré la présence des protéines du complexe Y et l'absence de pores nucléaires, l'enveloppe d'intercinèse est continue. Cette observation suggère que les protéines du complexe Y ne forment pas de pré-pores en intercinèse et qu'elles y jouent potentiellement d'autres fonctions.

Toutefois, l'absence de pores nucléaires n'est pas surprenante. Le rôle des pores nucléaires est majoritairement de restreindre et contrôler les communications nucléo-cytoplasmiques. En intercinèse, l'enveloppe ne se scelle jamais complètement (Figure R.1D). Il n'est donc, à priori, pas utile de former des pores nucléaires dans ce contexte. Ceci pourrait être la raison pour laquelle je n'ai pas observé la présence de protéines du canal central (NPP-1/-11^{NUP54/62}), de l'anneau interne (NPP-13^{NUP93}), des filaments cytoplasmiques (NPP-24^{NUP88}) et du panier nucléaire (NPP-21^{TPR}) qui sont essentielles à la régulation du transport nucléo-cytoplasmique. On peut émettre l'hypothèse que les nucléoporines NPP-25^{TMEM33} et NPP-12^{NUP210} du complexe transmembranaire, NPP-19^{NUP35} de l'anneau interne et NPP-7^{NUP153} du panier nucléaire sont recrutées à l'enveloppe d'intercinèse via leurs domaines membranaires, et sans lien avec la dynamique d'assemblage des pores nucléaires. Ces nucléoporines contribueraient en retour au recrutement des membranes en intercinèse.

Rôle de BAF-1 dans l'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse

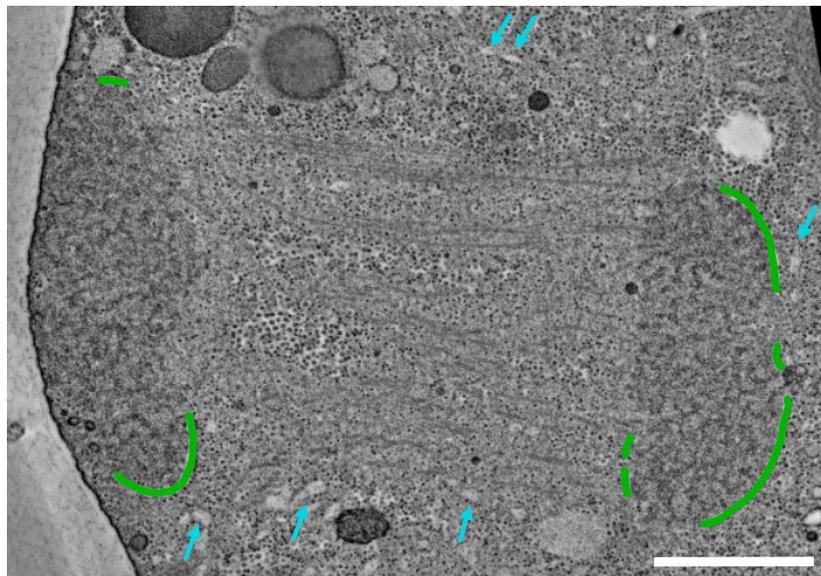
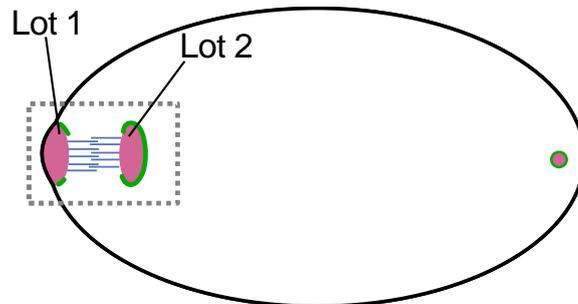
En absence de BAF-1, l'intensité du signal des protéines à domaine LEM LEM-2 et EMR-1 et de la protéine SUN-1 est significativement diminuée et l'enveloppe d'intercinèse est très fragmentée (Figure D.5). On peut donc émettre l'hypothèse que BAF-1, et/ou les protéines de la membrane interne qui en dépendent, sont nécessaires à la fusion des membranes et à l'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse.

La fusion des membranes peut avoir en théorie lieu de deux manières, soit via le recrutement de protéines qui promeuvent cette fusion, soit via la promotion de l'accumulation d'un excès de membranes qui induit leur fusion spontanée (Chernomordik et Kozlov 2003).

Lors de la reformation de l'enveloppe nucléaire en fin de mitose les protéines du complexe ESCRT III sont requises pour le scellement de l'enveloppe nucléaire et pour la fusion des membranes (Olmos et al. 2015). Dans les extraits d'œufs de xénope, différentes études ont démontré qu'indépendamment du complexe ESCRTIII les protéines SNAREs et la protéine atlastine amenées par le RE sont requises pour cette fusion (Baur et al. 2007; S. Wang et al. 2013; Jahn et Scheller 2006) . J'ai montré que les protéines du complexe ESCRT III ne sont pas recrutées à l'enveloppe d'intercinèse (Figure R.1D). J'ai également observé que l'enveloppe n'est pas en continuité avec le RE. La fusion des membranes a donc lieu indépendamment de la présence du complexe ESCRTIII et de l'activité de protéines apportées par le RE.

Le recrutement de LEM-2 par BAF-1

Une des questions que l'absence totale de GFP::LEM-2 en intercinèse en absence de BAF-1 soulève est de comprendre pourquoi LEM-2 dépend strictement de BAF-1 pour sa localisation en intercinèse et pas en interphase (Figure R.2A). LEM-2 possède en théorie un domaine de liaison à la chromatine qui lui permet de lier l'ADN sans l'intervention de BAF-1 (Caputo et al. 2006; Ulbert et al. 2006). En intercinèse, l'état condensé des chromosomes pourrait bloquer l'accessibilité des régions chromatiniennes auxquelles LEM-2 se lie, rendant BAF-1 indispensable pour sa localisation à la surface des chromosomes.



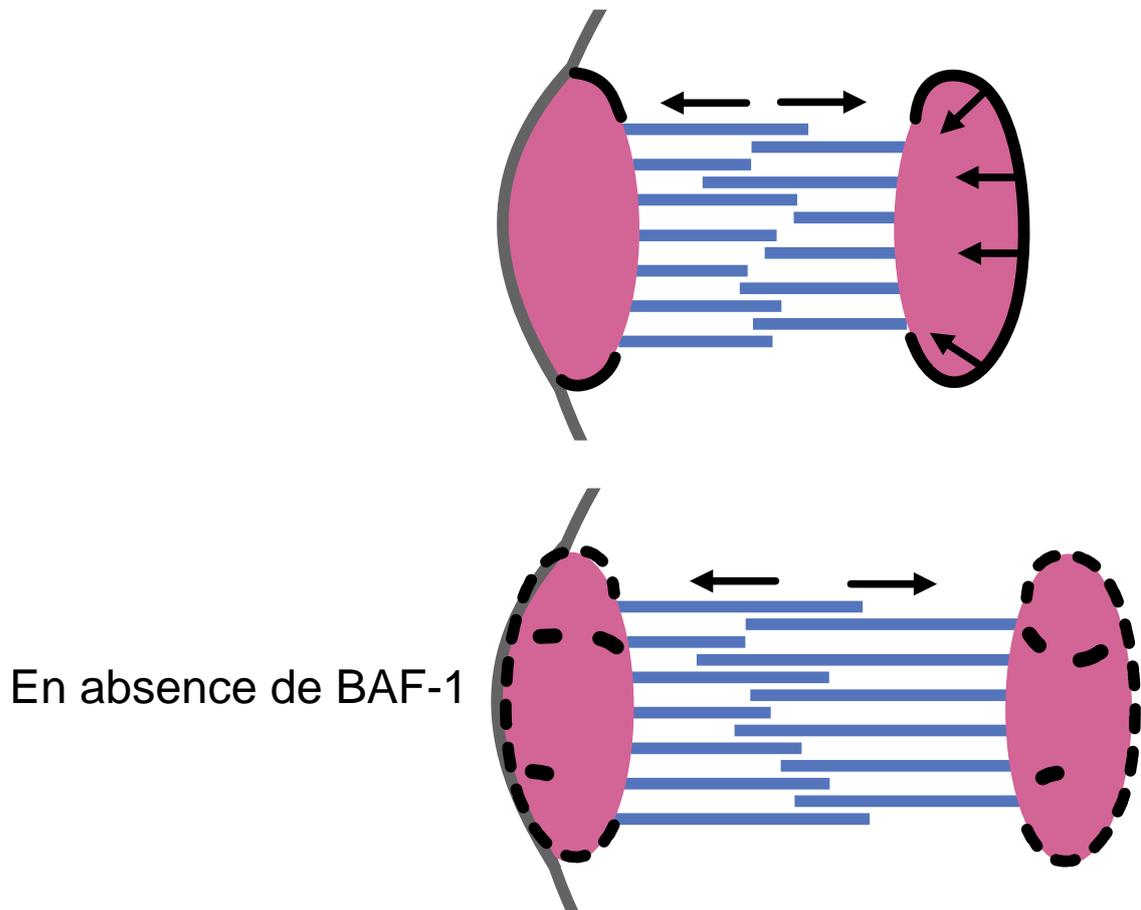
ADN, membranes, membranes autour du fuseau

Figure D. 6 : Les membranes de l'enveloppe d'intercinèse sont potentiellement originaires de fragments de membranes se localisant autour du fuseau.

Coupe de microscopie par tomographie d'un ovocyte en intercinèse. Les chromosomes sont segmentés en magenta, les membranes en contact avec les chromosomes en vert. Les flèches en cyan indiquent les fragments de membranes autour des chromosomes. La barre d'échelle représente 1 μ m.

L'origine des membranes de l'enveloppe d'intercinèse

En mitose, l'enveloppe nucléaire se reforme à partir du réticulum endoplasmique avec lequel elle est en continuité (Schellhaus, De Magistris, et Antonin 2016). Dans l'ovocyte de *C. elegans*, l'enveloppe d'intercinèse n'est pas en lien avec le RE et n'en partage pas la composition (Figure R.1B et R.2A, (Penfield et al. 2020)). Cependant, j'ai observé par microscopie électronique la présence de membranes isolées qui se localisent autour du fuseau en anaphase I et en intercinèse (Figure D.6). Ces membranes pourraient dériver du RE. Il serait intéressant de vérifier si d'autres protéines résidentes du RE à part ZYG-12 et SP-12 se localisent sur ces fragments de membranes. Le RE se compose de réticulons qui sont des protéines qui assurent sa fonction et sa structure. Elles sont caractérisées par un domaine RHD (reticulon homology domain, RHD), dont l'unique représentante chez *C. elegans* est la protéine RET-1 (Di Sano, Bernardoni, et Piacentini 2012). Dans les cellules HeLa, la protéine TMEM33 (orthologue de NPP-25^{TMEM33}) se localise au RE et lie les protéines à domaine RHD (Urade et al. 2014). Si cette fonction est conservée chez *C. elegans*, la présence de NPP-25^{TMEM33} à l'enveloppe d'intercinèse pourrait donc permettre le recrutement de membranes dérivées du RE qui participeraient en retour à la formation de cette enveloppe. Ceci pourrait expliquer pourquoi en absence de NPP-25^{TMEM33} le recrutement de GFP::LEM-2 est significativement diminué (Figure R.5C). SUN-1 qui s'associe également avec le RE pourrait aussi participer au recrutement de membranes alimentant la formation de l'enveloppe d'intercinèse. En accord avec cette hypothèse, l'intensité de GFP::SUN-1 diminue significativement en absence de BAF-1 (Figure R.3C). Si NPP-25^{TMEM33} et SUN-1 jouent effectivement un rôle dans l'apport des membranes formant l'enveloppe d'intercinèse, leur localisation asymétrique sur les deux lots de chromosomes en cours de ségrégation pourrait potentiellement expliquer l'asymétrie d'assemblage de l'enveloppe d'intercinèse. Afin de tester ces hypothèses, il serait intéressant d'analyser l'intégrité de l'enveloppe par une approche de microscopie électronique en SBF-SEM en absence de NPP-25^{TMEM33} ou SUN-1.



En absence de BAF-1

Figure D. 7 : Schéma représentant le rôle de l'enveloppe d'intercinèse dans le maintien des lots de chromosomes en cours de ségrégation

Rôle de l'enveloppe d'intercinèse dans la ségrégation des chromosomes

Hormis la condition où MEL-28 est déplétée, je n'ai pu trouver aucune condition où l'enveloppe d'intercinèse est absente de la surface des chromosomes.

J'ai par ailleurs constaté qu'en absence de BAF-1, l'enveloppe d'intercinèse est fragmentée (Figure R. 3D). Des études antérieures chez *C. elegans* ont démontré que l'absence de BAF-1 en mitose conduit à des défauts majeurs de ségrégation des chromosomes accompagnés de défauts de reformation de l'enveloppe nucléaire. L'enveloppe nucléaire ne recouvre alors pas totalement les chromosomes et des membranes intranucléaires sont présentes (Gorjánác et al. 2007). Ces membranes intranucléaires sont probablement responsables de la formation de micronoyaux, comme c'est le cas dans les cellules humaines en culture où les micronoyaux sont causés par la reformation de l'enveloppe nucléaire autour de chaque chromosome (Samwer et al. 2017).

L'absence de BAF-1 en anaphase I ne conduit pas à des défauts majeurs de ségrégation. Les chromosomes se séparent plus rapidement et sur une plus grande distance, mais ils rentrent ensuite en méiose II sans erreurs de ségrégation (Figure R.5D). L'intégrité de l'enveloppe d'intercinèse serait donc importante pour ralentir la ségrégation des chromosomes par le mécanisme de poussée (Figure D.7). On peut supposer que celle-ci agit comme une barrière regroupant les chromosomes en un seul lot, et contrecarrant ainsi les forces de poussée exercées par le fuseau central d'anaphase. Ce n'est qu'à la sortie de méiose II que des défauts semblables à la formation de micronoyaux sont observés (Figure R.3A, R.3B et R.3C). La différence des phénotypes observés en intercinèse et en sortie de méiose II pourrait être due à l'état de condensation des chromosomes dans ces deux phases. Les chromosomes restent condensés en intercinèse, tandis qu'ils se décondensent rapidement à la sortie de méiose II. Un état décondensé de la chromatine pourrait, en effet, permettre l'accessibilité des fragments de membrane formant les micronoyaux en absence de BAF-1.

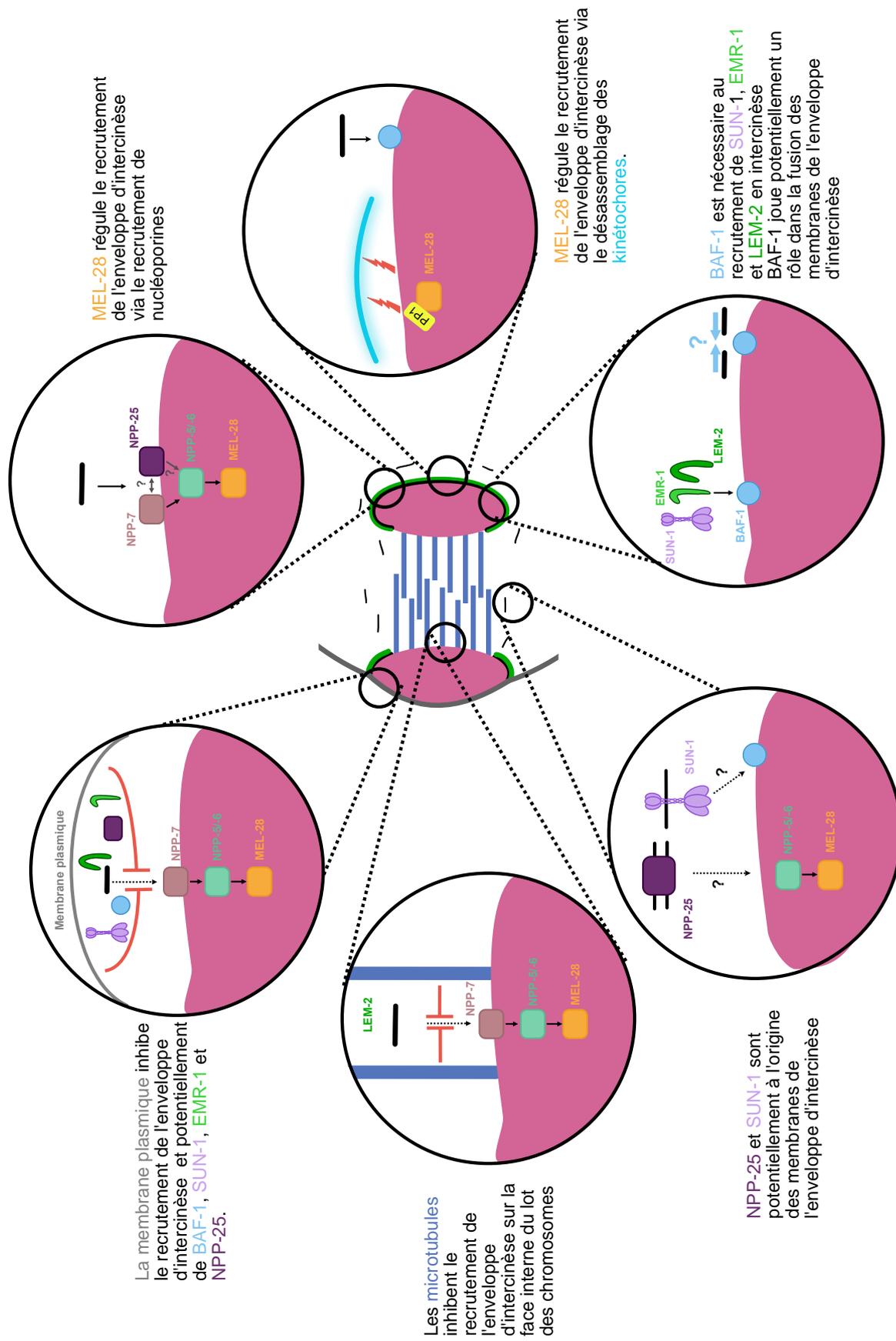


Figure D. 8 : Schéma récapitulatif du modèle proposé pour la formation et la régulation de l'enveloppe d'intercinèse

Rôle potentiel de l'enveloppe d'intercinèse dans le maintien des chromosomes lors de l'arrêt secondaire en anaphase I

Lors de l'ovogénèse chez *C. elegans*, un arrêt secondaire a lieu après la fécondation. Il a été mis en évidence expérimentalement par l'utilisation d'une lignée mutante présentant des spermatozoïdes défectueux, non fécondants (McNally 2005). Dans cette lignée, les ovocytes non-fécondés marquent un arrêt en intercinèse durant lequel les chromosomes restent condensés. Après environ 18 minutes, les chromosomes commencent à se décondenser pour former le pronoyau femelle. Un rôle potentiel de l'enveloppe d'intercinèse pourrait être d'entourer le lot de chromosomes en cas de non fécondation de l'ovocyte afin de protéger les chromosomes durant leur décondensation et leur migration. Il serait intéressant d'observer la dynamique et la reformation de l'enveloppe d'intercinèse dans cette condition expérimentale et de tester si l'enveloppe d'intercinèse persiste au niveau des chromosomes jusqu'à la migration du pronoyau, ou si elle se désassemble pour permettre à l'enveloppe d'interphase de former le pronoyau femelle. Dans le cas où l'enveloppe d'intercinèse persiste, il serait intéressant de vérifier si des pores nucléaires s'y reforment.

Conservation inter-espèces de l'enveloppe d'intercinèse

Comme les chromosomes restent condensés en intercinèse, il est généralement admis que l'enveloppe nucléaire ne se reforme pas à ce stade. J'ai démontré via mes résultats la formation d'une enveloppe atypique qui entoure les chromosomes condensés dans l'ovocyte de *C. elegans* (Figure D.8).

Chez *C. elegans*, la formation de l'enveloppe d'intercinèse en fin d'anaphase I coïncide avec l'arrêt secondaire de l'ovogénèse (voir paragraphe précédent). Il serait intéressant de tester si la reformation de cette enveloppe est conservée dans d'autres modèles expérimentaux où le second arrêt n'est pas en intercinèse, tels que l'étoile de mer où l'arrêt a lieu après la formation du pronoyau femelle, la drosophile où l'arrêt secondaire a lieu en métaphase I ou la souris où l'arrêt n'a lieu qu'en métaphase II (Von Stetina et Orr-Weaver

2011). Chez la souris, une étude a démontré que NUP35^{NPP-19} se localise sur la surface des chromosomes en anaphase I et en télophase I (Chen et al. 2018). L'orthologue de NUP35, NPP-19 chez *C. elegans*, se localise à l'enveloppe d'intercinèse. Il serait intéressant de tester si NUP35^{NPP-19} dans les ovocytes de souris est associée à des membranes.

Références bibliographiques

Alcázar-Román, Abel R., Elizabeth J. Tran, Shuangli Guo, et Susan R. Wenthe. 2006. « Inositol Hexakisphosphate and Gle1 Activate the DEAD-Box Protein Dbp5 for Nuclear mRNA Export ». *Nature Cell Biology* 8 (7): 711-16. <https://doi.org/10.1038/ncb1427>.

Al-Haboubi, Teiba, Dale K. Shumaker, Joachim Köser, Manfred Wehnert, et Birthe Fahrenkrog. 2011. « Distinct association of the nuclear pore protein Nup153 with A- and B-type lamins ». *Nucleus* 2 (5): 500-509. <https://doi.org/10.4161/nucl.2.5.17913>.

Antonin, Wolfram, Cerstin Franz, Uta Haselmann, Claude Antony, et Iain W. Mattaj. 2005. « The Integral Membrane Nucleoporin Pom121 Functionally Links Nuclear Pore Complex Assembly and Nuclear Envelope Formation ». *Molecular Cell* 17 (1): 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.12.010>.

Appen, Alexander von, et Martin Beck. 2016. « Structure Determination of the Nuclear Pore Complex with Three-Dimensional Cryo Electron Microscopy ». *Journal of Molecular Biology* 428 (10 Pt A): 2001-10. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.01.004>.

Appen, Alexander von, Jan Kosinski, Lenore Sparks, Alessandro Ori, Amanda L. DiGuilio, Benjamin Vollmer, Marie-Therese Mackmull, et al. 2015. « In Situ Structural Analysis of the Human Nuclear Pore Complex ». *Nature* 526 (7571): 140-43. <https://doi.org/10.1038/nature15381>.

Appen, Alexander von, Dollie LaJoie, Isabel E. Johnson, Michael J. Trnka, Sarah M. Pick, Alma L. Burlingame, Katharine S. Ullman, et Adam Frost. 2020. « LEM2 Phase Separation Promotes ESCRT-Mediated Nuclear Envelope Reformation ». *Nature* 582 (7810): 115-18. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2232-x>.

Asencio, Claudio, Iain F. Davidson, Rachel Santarella-Mellwig, Thi Bach Nga Ly-Hartig, Moritz Mall, Matthew R. Wallenfang, Iain W. Mattaj, et Mátyás Gorjánác. 2012. « Coordination of Kinase and Phosphatase Activities by Lem4 Enables Nuclear Envelope Reassembly during Mitosis ». *Cell* 150 (1): 122-35. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.043>.

Askjaer, Peter, Vincent Galy, Eva Hannak, et Iain W. Mattaj. 2002. « Ran GTPase

Cycle and Importins α and β Are Essential for Spindle Formation and Nuclear Envelope Assembly in Living *Caenorhabditis elegans* Embryos ». *Molecular Biology of the Cell* 13 (12): 4355-70. <https://doi.org/10.1091/mbc.E02-06-0346>.

Barkan, Rachel, Adam J. Zahand, Kfir Sharabi, Ayelet T. Lamm, Naomi Feinstein, Erin Haithcock, Katherine L. Wilson, Jun Liu, et Yosef Gruenbaum. 2012. « Ce-emerin and LEM-2: essential roles in *Caenorhabditis elegans* development, muscle function, and mitosis ». *Molecular Biology of the Cell* 23 (4): 543-52. <https://doi.org/10.1091/mbc.E11-06-0505>.

Baur, Tina, Kristijan Ramadan, Andreas Schlundt, Jürgen Kartenbeck, et Hemmo H. Meyer. 2007. « NSF- and SNARE-mediated membrane fusion is required for nuclear envelope formation and completion of nuclear pore complex assembly in *Xenopus laevis* egg extracts ». *Journal of Cell Science* 120 (16): 2895-2903. <https://doi.org/10.1242/jcs.010181>.

Belgareh, N., G. Rabut, S.W. Bai, M. Van Overbeek, J. Beaudouin, N. Daigle, O.V. Zatssepina, et al. 2001. « An Evolutionarily Conserved NPC Subcomplex, Which Redistributes in Part to Kinetochores in Mammalian Cells ». *Journal of Cell Biology* 154 (6): 1147-60. <https://doi.org/10.1083/jcb.200101081>.

Berk, Jason M, Kathryn E Tiff, et Katherine L Wilson. 2013. « The nuclear envelope LEM-domain protein emerlin ». *Nucleus* 4 (4): 298-314. <https://doi.org/10.4161/nucl.25751>.

Bley, Christopher J., Si Nie, George W. Mobbs, Stefan Petrovic, Anna T. Gres, Xiaoyu Liu, Somnath Mukherjee, et al. 2022. « Architecture of the Cytoplasmic Face of the Nuclear Pore ». *Science (New York, N.Y.)* 376 (6598): eabm9129. <https://doi.org/10.1126/science.abm9129>.

Boehmer, Thomas, Jost Enninga, Samuel Dales, Gunter Blobel, et Hualin Zhong. 2003. « Depletion of a Single Nucleoporin, Nup107, Prevents the Assembly of a Subset of Nucleoporins into the Nuclear Pore Complex ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (3): 981-85. <https://doi.org/10.1073/pnas.252749899>.

Brachner, Andreas, Siegfried Reipert, Roland Foisner, et Josef Gotzmann. 2005. « LEM2 Is a Novel MAN1-Related Inner Nuclear Membrane Protein Associated with A-Type Lamins ». *Journal of Cell Science* 118 (24): 5797-5810. <https://doi.org/10.1242/jcs.02701>.

Bui, Khanh Huy, Alexander von Appen, Amanda L. DiGuilio, Alessandro Ori, Lenore Sparks, Marie-Therese Mackmull, Thomas Bock, et al. 2013. « Integrated Structural Analysis of the Human Nuclear Pore Complex Scaffold ». *Cell* 155 (6): 1233-43. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.055>.

C. elegans Sequencing Consortium. 1998. « Genome Sequence of the Nematode *C. Elegans*: A Platform for Investigating Biology ». *Science (New York, N.Y.)* 282 (5396): 2012-18. <https://doi.org/10.1126/science.282.5396.2012>.

Cai, M., Y. Huang, R. Ghirlando, K. L. Wilson, R. Craigie, et G. M. Clore. 2001. « Solution Structure of the Constant Region of Nuclear Envelope Protein LAP2 Reveals Two LEM-Domain Structures: One Binds BAF and the Other Binds DNA ». *The EMBO Journal* 20 (16): 4399-4407. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.16.4399>.

Caputo, Sandrine, Joël Couprie, Isabelle Duband-Goulet, Emilie Kondé, Feng Lin, Sandrine Braud, Muriel Gondry, Bernard Gilquin, Howard J. Worman, et Sophie Zinn-Justin. 2006. « The Carboxyl-Terminal Nucleoplasmic Region of MAN1 Exhibits a DNA Binding Winged Helix Domain* ». *Journal of Biological Chemistry* 281 (26): 18208-15. <https://doi.org/10.1074/jbc.M601980200>.

Carlton, Peter M., Richard E. Davis, et Shawn Ahmed. 2022. « Nematode Chromosomes ». *Genetics* 221 (1): iyac014. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyac014>.

Carvalho, Carlos Egydio de, Sophie Zaaijer, Sarit Smolikov, Yanjie Gu, Jill M. Schumacher, et Monica P. Colaiácovo. 2008. « LAB-1 Antagonizes the Aurora B Kinase in *C. Elegans* ». *Genes & Development* 22 (20): 2869-85. <https://doi.org/10.1101/gad.1691208>.

Cheeseman, Iain M., Sherry Niessen, Scott Anderson, Francie Hyndman, John R. Yates, Karen Oegema, et Arshad Desai. 2004. « A Conserved Protein Network Controls Assembly of the Outer Kinetochore and Its Ability to Sustain Tension ». *Genes & Development* 18 (18): 2255-68. <https://doi.org/10.1101/gad.1234104>.

Chen, Fan, Xiao-Fei Jiao, Jia-Yu Zhang, Di Wu, Zhi-Ming Ding, Yong-Sheng Wang, Yi-Liang Miao, et Li-Jun Huo. 2018. « Nucleoporin35 Is a Novel Microtubule Associated Protein Functioning in Oocyte Meiotic Spindle Architecture ». *Experimental Cell Research* 371 (2): 435-43. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.09.004>.

Chernomordik, Leonid V., et Michael M. Kozlov. 2003. « Protein-Lipid Interplay in Fusion and Fission of Biological Membranes ». *Annual Review of Biochemistry* 72: 175-207. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161504>.

Chuang, Chien-Hui, Aleesa J. Schlientz, Jie Yang, et Bruce Bowerman. 2020. « Microtubule assembly and pole coalescence: early steps in *Caenorhabditis elegans* oocyte meiosis I spindle assembly ». *Biology Open* 9 (6): bio052308. <https://doi.org/10.1242/bio.052308>.

Clever, Michaela, Tomoko Funakoshi, Yasuhiro Mimura, Masatoshi Takagi, et Naoko Imamoto. 2012. « The Nucleoporin ELYS/Mel28 Regulates Nuclear Envelope Subdomain Formation in HeLa Cells ». *Nucleus (Austin, Tex.)* 3 (2): 187-99. <https://doi.org/10.4161/nucl.19595>.

Cohen, Merav, Naomi Feinstein, Katherine L. Wilson, et Yosef Gruenbaum. 2003. « Nuclear Pore Protein gp210 Is Essential for Viability in HeLa Cells and *Caenorhabditis elegans* ». *Molecular Biology of the Cell* 14 (10): 4230-37. <https://doi.org/10.1091/mbc.E03-04-0260>.

Cohen, Merav, Yonatan B. Tzur, Esther Neufeld, Naomi Feinstein, Michael R. Delannoy, Katherine L. Wilson, et Yosef Gruenbaum. 2002. « Transmission Electron Microscope Studies of the Nuclear Envelope in *Caenorhabditis Elegans* Embryos ». *Journal of Structural Biology* 140 (1): 232-40. [https://doi.org/10.1016/S1047-8477\(02\)00516-6](https://doi.org/10.1016/S1047-8477(02)00516-6).

Cohen-Fix, Orna, et Peter Askjaer. 2017. « Cell Biology of the *Caenorhabditis elegans* Nucleus ». *Genetics* 205 (1): 25-59. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.197160>.

Cole, Charles N, et John J Scarcelli. 2006. « Transport of Messenger RNA from the Nucleus to the Cytoplasm ». *Current Opinion in Cell Biology, Nucleus and gene expression*, 18 (3): 299-306. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2006.04.006>.

Crisp, Melissa, Qian Liu, Kyle Roux, J. B. Rattner, Catherine Shanahan, Brian Burke, Phillip D. Stahl, et Didier Hodzic. 2006. « Coupling of the Nucleus and Cytoplasm: Role of the LINC Complex ». *The Journal of Cell Biology* 172 (1): 41-53. <https://doi.org/10.1083/jcb.200509124>.

Crittenden, S.L., E.R. Troemel, T.C. Evans, et J. Kimble. 1994. « GLP-1 is localized to the mitotic region of the *C. elegans* germ line ». *Development* 120 (10): 2901-11. <https://doi.org/10.1242/dev.120.10.2901>.

Daigle, Nathalie, Joël Beaudouin, Lisa Hartnell, Gabriela Imreh, Einar Hallberg, Jennifer Lippincott-Schwartz, et Jan Ellenberg. 2001. « Nuclear pore complexes form immobile networks and have a very low turnover in live mammalian cells ». *Journal of Cell Biology* 154 (1): 71-84. <https://doi.org/10.1083/jcb.200101089>.

Dawlaty, Meelad M., Liviu Malureanu, Karthik B. Jeganathan, Esther Kao, Claudio Sustmann, Samuel Tahk, Ke Shuai, Rudolf Grosschedl, et Jan M. van Deursen. 2008. « Resolution of Sister Centromeres Requires RanBP2-Mediated SUMOylation of Topoisomerase II α ». *Cell* 133 (1): 103-15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.045>.

Debec, Alain, William Sullivan, et Monica Bettencourt-Dias. 2010. « Centrioles: active players or passengers during mitosis? » *Cellular and Molecular Life Sciences* 67 (13): 2173-94. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0323-9>.

Deerinck, T.J., Eric Bushong, Andrea Thor, et Mark Ellisman. 2010. « NCMIR methods for 3D EM: A new protocol for preparation of biological specimens for serial block face scanning electron microscopy ». *Nat Center Microsc Imag Res*, janvier, 6-8.

Dey, Gautam, Siân Culley, Scott Curran, Uwe Schmidt, Ricardo Henriques, Wanda Kukulski, et Buzz Baum. 2020. « Closed Mitosis Requires Local Disassembly of the Nuclear Envelope ». *Nature* 585 (7823): 119-23. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2648-3>.

Di Sano, Federica, Paolo Bernardoni, et Mauro Piacentini. 2012. « The Reticulons: Guardians of the Structure and Function of the Endoplasmic Reticulum ». *Experimental Cell Research* 318 (11): 1201-7. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.03.002>.

Dittrich, Christina M., Katja Kratz, Ataman Sendoel, Yosef Gruenbaum, Josef Jiricny, et Michael O. Hengartner. 2012. « LEM-3 - A LEM Domain Containing Nuclease Involved in the DNA Damage Response in *C. Elegans* ». *PloS One* 7 (2): e24555. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024555>.

Dong, Qianhua, et Fei Li. 2022. « Cell cycle control of kinetochore assembly ». *Nucleus* 13 (1): 208-20. <https://doi.org/10.1080/19491034.2022.2115246>.

Doucet, Christine M., Jessica A. Talamas, et Martin W. Hetzer. 2010. « Cell Cycle Dependent Differences in Nuclear Pore Complex Assembly in Metazoa ». *Cell* 141 (6): 1030-41. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.04.036>.

Drin, Guillaume, Jean-François Casella, Romain Gautier, Thomas Boehmer, Thomas U. Schwartz, et Bruno Antonny. 2007. « A General Amphipathic α -Helical Motif for Sensing Membrane Curvature ». *Nature Structural & Molecular Biology* 14 (2): 138-46. <https://doi.org/10.1038/nsmb1194>.

Drinnenberg, Ines A., Steven Henikoff, et Harmit S. Malik. 2016. « Evolutionary Turnover of Kinetochore Proteins: A Ship of Theseus? » *Trends in Cell Biology* 26 (7): 498-510. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.01.005>.

Dultz, Elisa, et Jan Ellenberg. 2010. « Live imaging of single nuclear pores reveals unique assembly kinetics and mechanism in interphase ». *Journal of Cell Biology* 191 (1): 15-22. <https://doi.org/10.1083/jcb.201007076>.

Dultz, Elisa, Matthias Wojtynek, Ohad Medalia, et Evgeny Onischenko. 2022. « The Nuclear Pore Complex: Birth, Life, and Death of a Cellular Behemoth ». *Cells* 11 (9): 1456. <https://doi.org/10.3390/cells11091456>.

Dumont, Julien, et Arshad Desai. 2012. « Acentrosomal Spindle Assembly and Chromosome Segregation during Oocyte Meiosis ». *Trends in Cell Biology* 22 (5): 241-49. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2012.02.007>.

Dumont, Julien, Karen Oegema, et Arshad Desai. 2010. « A kinetochore-independent mechanism drives anaphase chromosome separation during acentrosomal meiosis ». *Nature Cell Biology* 12 (9): 894-901. <https://doi.org/10.1038/ncb2093>.

Earnshaw, William C., et Carol A. Cooke. 1989. « Proteins of the inner and outer centromere of mitotic chromosomes ». *Genome* 31 (2): 541-52. <https://doi.org/10.1139/g89-103>.

Eisenhardt, N., J. Redolfi, et W. Antonin. 2014. « Interaction of Nup53 with Ndc1 and Nup155 Is Required for Nuclear Pore Complex Assembly ». *Journal of Cell Science* 127 (4): 908-21. <https://doi.org/10.1242/jcs.141739>.

Enarson, Paul, Mark Enarson, Ricardo Bastos, et Brian Burke. 1998. « Amino-Terminal Sequences That Direct Nucleoporin Nup153 to the Inner Surface of the Nuclear Envelope ». *Chromosoma* 107 (4): 228-36. <https://doi.org/10.1007/s004120050301>.

Evangelisti, Camilla, Isabella Rusciano, Sara Mongiorgi, Giulia Ramazzotti, Giovanna Lattanzi, Lucia Manzoli, Lucio Cocco, et Stefano Ratti. 2022. « The wide and growing range of lamin B-related diseases: from laminopathies to cancer ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 79 (2): 126. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-04084-2>.

Fabritius, Amy S., Marina L. Ellefson, et Francis J. McNally. 2011. « Nuclear and Spindle Positioning during Oocyte Meiosis ». *Current opinion in cell biology* 23 (1): 78-84. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.07.008>.

Fernandez, Anita G., et Fabio Piano. 2006. « MEL-28 Is Downstream of the Ran Cycle and Is Required for Nuclear-Envelope Function and Chromatin Maintenance ». *Current Biology* 16 (17): 1757-63. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.07.071>.

Ferreira, Jorge, Jeffrey H. Stear, et Harald Saumweber. 2017. « Nucleoporins NPP-10, NPP-13 and NPP-20 Are Required for HCP-4 Nuclear Import to Establish Correct

Centromere Assembly ». *Journal of Cell Science* 130 (5): 963-74.

<https://doi.org/10.1242/jcs.196709>.

Floch, Aurélie G., David Tareste, Patrick F. J. Fuchs, Anne Chadrin, Ikrame Naciri, Thibaut Léger, Gabriel Schlenstedt, Benoit Palancade, et Valérie Doye. 2015. « Nuclear pore targeting of the yeast Pom33 nucleoporin depends on karyopherin and lipid binding ». *Journal of Cell Science* 128 (2): 305-16. <https://doi.org/10.1242/jcs.158915>.

Foisner, R., et L. Gerace. 1993. « Integral Membrane Proteins of the Nuclear Envelope Interact with Lamins and Chromosomes, and Binding Is Modulated by Mitotic Phosphorylation ». *Cell* 73 (7): 1267-79. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90355-t](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90355-t).

Franz, Cerstin, Peter Askjaer, Wolfram Antonin, Carmen López Iglesias, Uta Haselmann, Malgorzata Schelder, Ario de Marco, Matthias Wilm, Claude Antony, et Iain W. Mattaj. 2005. « Nup155 Regulates Nuclear Envelope and Nuclear Pore Complex Formation in Nematodes and Vertebrates ». *The EMBO Journal* 24 (20): 3519-31. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600825>.

Franz, Cerstin, Rudolf Walczak, Sevil Yavuz, Rachel Santarella, Marc Gentzel, Peter Askjaer, Vincent Galy, Martin Hetzer, Iain W. Mattaj, et Wolfram Antonin. 2007. « MEL-28/ELYS Is Required for the Recruitment of Nucleoporins to Chromatin and Postmitotic Nuclear Pore Complex Assembly ». *EMBO Reports* 8 (2): 165-72. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400889>.

Galy, Vincent, Wolfram Antonin, Andreas Jaedicke, Martin Sachse, Rachel Santarella, Uta Haselmann, et Iain Mattaj. 2008. « A Role for Gp210 in Mitotic Nuclear-Envelope Breakdown ». *Journal of Cell Science* 121 (Pt 3): 317-28. <https://doi.org/10.1242/jcs.022525>.

Galy, Vincent, Peter Askjaer, Cerstin Franz, Carmen López-Iglesias, et Iain W. Mattaj. 2006. « MEL-28, a Novel Nuclear-Envelope and Kinetochores Protein Essential for Zygotic Nuclear-Envelope Assembly in *C. Elegans* ». *Current Biology* 16 (17): 1748-56. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.06.067>.

Galy, Vincent, Iain W. Mattaj, et Peter Askjaer. 2003. « *Caenorhabditis elegans* Nucleoporins Nup93 and Nup205 Determine the Limit of Nuclear Pore Complex Size Exclusion In Vivo ». *Molecular Biology of the Cell* 14 (12): 5104-15. <https://doi.org/10.1091/mbc.E03-04-0237>.

Gascoigne, Karen E., et Iain M. Cheeseman. 2013. « CDK-dependent phosphorylation and nuclear exclusion coordinately control kinetochores assembly state ». *The Journal of*

Cell Biology 201 (1): 23-32. <https://doi.org/10.1083/jcb.201301006>.

Gigant, Emmanuelle, Marine Stefanutti, Kimberley Laband, Agata Gluszek-Kustusz, Frances Edwards, Benjamin Lacroix, Gilliane Maton, Julie C. Canman, Julie P. I. Welburn, et Julien Dumont. 2017. « Inhibition of ectopic microtubule assembly by the kinesin-13 KLP-7 prevents chromosome segregation and cytokinesis defects in oocytes ». *Development (Cambridge, England)* 144 (9): 1674-86. <https://doi.org/10.1242/dev.147504>.

Development (Cambridge, England) 144 (9): 1674-86. <https://doi.org/10.1242/dev.147504>.

Gómez-Saldivar, Georgina, Anita Fernandez, Yasuhiro Hirano, Michael Mauro, Allison Lai, Cristina Ayuso, Tokuko Haraguchi, Yasushi Hiraoka, Fabio Piano, et Peter Askjaer. 2016. « Identification of Conserved MEL-28/ELYS Domains with Essential Roles in Nuclear Assembly and Chromosome Segregation ». *PLoS Genetics* 12 (6): e1006131. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006131>.

Gönczy, Pierre, Christophe Echeverri, Karen Oegema, Alan Coulson, Steven J. M. Jones, Richard R. Copley, John Duperon, et al. 2000. « Functional Genomic Analysis of Cell Division in *C. Elegans* Using RNAi of Genes on Chromosome III ». *Nature* 408 (6810): 331-36. <https://doi.org/10.1038/35042526>.

González-Aguilera, Cristina, Kohta Ikegami, Cristina Ayuso, Alberto de Luis, María Íñiguez, Juan Cabello, Jason D. Lieb, et Peter Askjaer. 2014. « Genome-Wide Analysis Links Emerin to Neuromuscular Junction Activity in *Caenorhabditis Elegans* ». *Genome Biology* 15 (2): R21. <https://doi.org/10.1186/gb-2014-15-2-r21>.

Gorjánác, Mátyás. 2013. « LEM-4 Promotes Rapid Dephosphorylation of BAF during Mitotic Exit ». *Nucleus (Austin, Tex.)* 4 (1): 14-17. <https://doi.org/10.4161/nucl.22961>.

Gorjánác, Mátyás, Elke P F Klerkx, Vincent Galy, Rachel Santarella, Carmen López-Iglesias, Peter Askjaer, et Iain W Mattaj. 2007. « *Caenorhabditis elegans* BAF-1 and its kinase VRK-1 participate directly in post-mitotic nuclear envelope assembly ». *The EMBO Journal* 26 (1): 132-43. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601470>.

Greber, U. F., A. Senior, et L. Gerace. 1990. « A Major Glycoprotein of the Nuclear Pore Complex Is a Membrane-Spanning Polypeptide with a Large Luminal Domain and a Small Cytoplasmic Tail ». *The EMBO Journal* 9 (5): 1495-1502. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08267.x>.

Gruenbaum, Yosef, et Roland Foisner. 2015. « Lamins: Nuclear Intermediate Filament Proteins with Fundamental Functions in Nuclear Mechanics and Genome Regulation ». *Annual Review of Biochemistry* 84: 131-64. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034115>.

Hachet, Virginie, Coralie Busso, Mika Toya, Asako Sugimoto, Peter Askjaer, et Pierre Gönczy. 2012. « The Nucleoporin Nup205/NPP-3 Is Lost near Centrosomes at Mitotic Onset and Can Modulate the Timing of This Process in *Caenorhabditis Elegans* Embryos ». *Molecular Biology of the Cell* 23 (16): 3111-21.

<https://doi.org/10.1091/mbc.E12-03-0204>.

Halfmann, Charles T., et Kyle J. Roux. 2021. « Barrier-to-Autointegration Factor: A First Responder for Repair of Nuclear Ruptures ». *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)* 20 (7): 647-60. <https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1892320>.

Hamed, Mohamed, et Wolfram Antonin. 2021. « Dunking into the Lipid Bilayer: How Direct Membrane Binding of Nucleoporins Can Contribute to Nuclear Pore Complex Structure and Assembly ». *Cells* 10 (12): 3601. <https://doi.org/10.3390/cells10123601>.

Hansen, Dave, et Tim Schedl. 2013. « Chapter 4. Stem cell proliferation versus meiotic fate decision in *C. elegans* ». *Advances in experimental medicine and biology* 757: 71-99. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4015-4_4.

Hansen, Dave, Laura Wilson-Berry, Thanh Dang, et Tim Schedl. 2004. « Control of the proliferation versus meiotic development decision in the *C. elegans* germline through regulation of GLD-1 protein accumulation ». *Development* 131 (1): 93-104. <https://doi.org/10.1242/dev.00916>.

Hanson, Phyllis I., et Anil Cashikar. 2012. « Multivesicular Body Morphogenesis ». *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 28: 337-62. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154152>.

Hao, Hongyan, et Daniel A. Starr. 2019. « SUN/KASH interactions facilitate force transmission across the nuclear envelope ». *Nucleus* 10 (1): 73-80. <https://doi.org/10.1080/19491034.2019.1595313>.

Hara, Masatoshi, et Tatsuo Fukagawa. 2018. « Kinetochore Assembly and Disassembly during Mitotic Entry and Exit ». *Current Opinion in Cell Biology, Cell Nucleus*, 52 (juin): 73-81. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2018.02.005>.

Haraguchi, Tokuko, Tomoko Kojidani, Takako Koujin, Takeshi Shimi, Hiroko Osakada, Chie Mori, Akitsugu Yamamoto, et Yasushi Hiraoka. 2008. « Live Cell Imaging and Electron Microscopy Reveal Dynamic Processes of BAF-Directed Nuclear Envelope Assembly ». *Journal of Cell Science* 121 (Pt 15): 2540-54. <https://doi.org/10.1242/jcs.033597>.

Harel, Amnon, Arturo V Orjalo, Thomas Vincent, Aurelie Lachish-Zalait, Sanjay

- Vasu, Sundeep Shah, Ella Zimmerman, Michael Elbaum, et Douglass J Forbes. 2003. « Removal of a Single Pore Subcomplex Results in Vertebrate Nuclei Devoid of Nuclear Pores ». *Molecular Cell* 11 (4): 853-64. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00116-3](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00116-3).
- Hartono, Masaharu Hazawa, Kee Siang Lim, Firli R. P. Dewi, Akiko Kobayashi, et Richard W. Wong. 2019. « Nucleoporin Nup58 localizes to centrosomes and mid-bodies during mitosis ». *Cell Division* 14 (1): 7. <https://doi.org/10.1186/s13008-019-0050-z>.
- Hase, Manuela E., et Volker C. Cordes. 2003. « Direct Interaction with Nup153 Mediates Binding of Tpr to the Periphery of the Nuclear Pore Complex ». *Molecular Biology of the Cell* 14 (5): 1923-40. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-09-0620>.
- Hashizume, Chieko, Akane Moyori, Akiko Kobayashi, Nana Yamakoshi, Aoi Endo, et Richard W Wong. 2013. « Nucleoporin Nup62 maintains centrosome homeostasis ». *Cell Cycle* 12 (24): 3804-16. <https://doi.org/10.4161/cc.26671>.
- Hashizume, Chieko, Hiroshi Nakano, Kimihisa Yoshida, et Richard W. Wong. 2010. « Characterization of the Role of the Tumor Marker Nup88 in Mitosis ». *Molecular Cancer* 9 (mai): 119. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-119>.
- Hattersley, Neil, Dhanya Cheerambathur, Mark Moyle, Marine Stefanutti, Amelia Richardson, Kian-Yong Lee, Julien Dumont, Karen Oegema, et Arshad Desai. 2016. « A Nucleoporin Docks Protein Phosphatase 1 to Direct Meiotic Chromosome Segregation and Nuclear Assembly ». *Developmental Cell* 38 (5): 463-77. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.08.006>.
- Hattersley, Neil, Pablo Lara-Gonzalez, Dhanya Cheerambathur, J. Sebastian Gomez-Cavazos, Taekyung Kim, Bram Prevo, Renat Khaliullin, et al. 2018. « Employing the One-Cell C. Elegans Embryo to Study Cell Division Processes ». *Methods in Cell Biology* 144: 185-231. <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2018.03.008>.
- Hattersley, Neil, Aleesa J. Schlientz, Bram Prevo, Karen Oegema, et Arshad Desai. 2022. « MEL-28/ELYS and CENP-C Coordinately Control Outer Kinetochore Assembly and Meiotic Chromosome-Microtubule Interactions ». *Current Biology* 32 (11): 2563-2571.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.04.046>.
- Henderson, S.T., D. Gao, E.J. Lambie, et J. Kimble. 1994. « lag-2 may encode a signaling ligand for the GLP-1 and LIN-12 receptors of C. elegans ». *Development* 120 (10): 2913-24. <https://doi.org/10.1242/dev.120.10.2913>.
- Hillers, Kenneth J. 2017. « Meiosis ». *WormBook*, mai, 1-43. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.178.1>.

Holzer, Guillaume, et Wolfram Antonin. 2019. « Breaking the Y ». *PLOS Genetics* 15 (5): e1008109. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008109>.

Huang, Gaoxingyu, Xiechao Zhan, Chao Zeng, Ke Liang, Xuechen Zhu, Yanyu Zhao, Pan Wang, et al. 2022. « Cryo-EM structure of the inner ring from the *Xenopus laevis* nuclear pore complex ». *Cell Research* 32 (5): 451-60. <https://doi.org/10.1038/s41422-022-00633-x>.

Huelgas-Morales, Gabriela, et David Greenstein. 2018. « Control of Oocyte Meiotic Maturation in *C. Elegans* ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 84 (décembre): 90-99. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.12.005>.

Inoue, Azusa, et Yi Zhang. 2014. « Nucleosome Assembly Is Required for Nuclear Pore Complex Assembly in Mouse Zygotes ». *Nature Structural & Molecular Biology* 21 (7): 609-16. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2839>.

Itoh, Go, Shiro Sugino, Masanori Ikeda, Mayumi Mizuguchi, Shin-ichiro Kanno, Mohammed A. Amin, Kenji Iemura, Akira Yasui, Toru Hirota, et Kozo Tanaka. 2013. « Nucleoporin Nup188 Is Required for Chromosome Alignment in Mitosis ». *Cancer Science* 104 (7): 871-79. <https://doi.org/10.1111/cas.12159>.

Jahn, Reinhard, et Richard H. Scheller. 2006. « SNAREs — Engines for Membrane Fusion ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7 (9): 631-43. <https://doi.org/10.1038/nrm2002>.

Jao, Li-En, Abdalla Akef, et Susan R. Wenthe. 2017. « A Role for Gle1, a Regulator of DEAD-Box RNA Helicases, at Centrosomes and Basal Bodies ». *Molecular Biology of the Cell* 28 (1): 120-27. <https://doi.org/10.1091/mbc.E16-09-0675>.

Joseph, Jomon, Song-Tao Liu, Sandra A. Jablonski, Tim J. Yen, et Mary Dasso. 2004. « The RanGAP1-RanBP2 Complex Is Essential for Microtubule-Kinetochore Interactions in Vivo ». *Current Biology: CB* 14 (7): 611-17. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.03.031>.

Khilan, Abdulghani A., Noor A. Al-Maslamani, et Henning F. Horn. 2021. « Cell Stretchers and the LINC Complex in Mechanotransduction ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 702 (mai): 108829. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108829>.

Kimble, J. E., et J. G. White. 1981. « On the Control of Germ Cell Development in *Caenorhabditis Elegans* ». *Developmental Biology* 81 (2): 208-19. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(81\)90284-0](https://doi.org/10.1016/0012-1606(81)90284-0).

Kittisopikul, Mark, Takeshi Shimi, Meltem Tatli, Joseph Riley Tran, Yixian Zheng, Ohad Medalia, Khuloud Jaqaman, Stephen A. Adam, et Robert D. Goldman. 2021.

« Computational analyses reveal spatial relationships between nuclear pore complexes and specific lamins ». *Journal of Cell Biology* 220 (4): e202007082.

<https://doi.org/10.1083/jcb.202007082>.

Kolano, Agnieszka, Stéphane Brunet, Alain D. Silk, Don W. Cleveland, et Marie-Hélène Verlhac. 2012. « Error-Prone Mammalian Female Meiosis from Silencing the Spindle Assembly Checkpoint without Normal Interkinetochore Tension ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (27): E1858-1867.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1204686109>.

Kremer, J. R., D. N. Mastronarde, et J. R. McIntosh. 1996. « Computer Visualization of Three-Dimensional Image Data Using IMOD ». *Journal of Structural Biology* 116 (1): 71-76. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1996.0013>.

Kuwabara, P. E., et N. O'Neil. 2001. « The Use of Functional Genomics in *C. Elegans* for Studying Human Development and Disease ». *Journal of Inherited Metabolic Disease* 24 (2): 127-38. <https://doi.org/10.1023/a:1010306731764>.

Laband, Kimberley, Rémi Le Borgne, Frances Edwards, Marine Stefanutti, Julie C. Canman, Jean-Marc Verbavatz, et Julien Dumont. 2017. « Chromosome Segregation Occurs by Microtubule Pushing in Oocytes ». *Nature Communications* 8 (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01539-8>.

LaJoie, Dollie, Ayse M. Turkmen, Douglas R. Mackay, Christopher C. Jensen, Vasilisa Aksanova, Maho Niwa, Mary Dasso, et Katharine S. Ullman. 2022. « A Role for Nup153 in Nuclear Assembly Reveals Differential Requirements for Targeting of Nuclear Envelope Constituents ». *Molecular Biology of the Cell*, août, mbcE22050189. <https://doi.org/10.1091/mbc.E22-05-0189>.

Lee, Kenneth K., Yosef Gruenbaum, Perah Spann, Jun Liu, et Katherine L. Wilson. 2000. « *C. elegans* Nuclear Envelope Proteins Emerin, MAN1, Lamin, and Nucleoporins Reveal Unique Timing of Nuclear Envelope Breakdown during Mitosis ». *Molecular Biology of the Cell* 11 (9): 3089-99. <https://doi.org/10.1091/mbc.11.9.3089>.

Lee, Myung Soo, et Robert Craigie. 1998. « A previously unidentified host protein protects retroviral DNA from autointegration ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (4): 1528-33.

Lenz-Böhme, Bettina, Jasmine Wismar, Silke Fuchs, Rita Reifegerste, Erich Buchner, Heinrich Betz, et Bertram Schmitt. 1997. « Insertional Mutation of the *Drosophila* Nuclear Lamin Dm0 Gene Results in Defective Nuclear Envelopes, Clustering of Nuclear Pore

Complexes, and Accumulation of Annulate Lamellae ». *Journal of Cell Biology* 137 (5): 1001-16. <https://doi.org/10.1083/jcb.137.5.1001>.

Lin, F., et H. J. Worman. 1993. « Structural Organization of the Human Gene Encoding Nuclear Lamin A and Nuclear Lamin C ». *Journal of Biological Chemistry* 268 (22): 16321-26. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)85424-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)85424-8).

Lin, Qiaoyu, Bin Yu, Xiangyang Wang, Shicong Zhu, Gan Zhao, Mingkang Jia, Fan Huang, et al. 2020. « K6-linked SUMOylation of BAF regulates nuclear integrity and DNA replication in mammalian cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117 (19): 10378-87. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912984117>.

Linder, Monika I., Mario Köhler, Paul Boersema, Marion Weberruss, Cornelia Wandke, Joseph Marino, Caroline Ashiono, Paola Picotti, Wolfram Antonin, et Ulrike Kutay. 2017. « Mitotic Disassembly of Nuclear Pore Complexes Involves CDK1- and PLK1-Mediated Phosphorylation of Key Interconnecting Nucleoporins ». *Developmental Cell* 43 (2): 141-156.e7. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.08.020>.

Liu, J., T. Rolef Ben-Shahar, D. Riemer, M. Treinin, P. Spann, K. Weber, A. Fire, et Y. Gruenbaum. 2000. « Essential Roles for Caenorhabditis Elegans Lamin Gene in Nuclear Organization, Cell Cycle Progression, and Spatial Organization of Nuclear Pore Complexes ». *Molecular Biology of the Cell* 11 (11): 3937-47. <https://doi.org/10.1091/mbc.11.11.3937>.

Liu, Jun, Kenneth K. Lee, Miriam Segura-Totten, Ester Neufeld, Katherine L. Wilson, et Yosef Gruenbaum. 2003. « MAN1 and Emerin Have Overlapping Function(s) Essential for Chromosome Segregation and Cell Division in Caenorhabditis Elegans ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (8): 4598-4603. <https://doi.org/10.1073/pnas.0730821100>.

Liu, Qian, Nelly Pante, Tom Misteli, Mohamed Elsagga, Melissa Crisp, Didier Hodzic, Brian Burke, et Kyle J. Roux. 2007. « Functional Association of Sun1 with Nuclear Pore Complexes ». *The Journal of Cell Biology* 178 (5): 785-98. <https://doi.org/10.1083/jcb.200704108>.

Loïodice, Isabelle, Annabelle Alves, Gwénaél Rabut, Megan Van Overbeek, Jan Ellenberg, Jean-Baptiste Sibarita, et Valérie Doye. 2004. « The Entire Nup107-160 Complex, Including Three New Members, Is Targeted as One Entity to Kinetochores in Mitosis ». *Molecular Biology of the Cell* 15 (7): 3333-44. <https://doi.org/10.1091/mbc.e03->

12-0878.

Lutzmann, Malik, Ruth Kunze, Andrea Buerer, Ueli Aebi, et Ed Hurt. 2002. « Modular self-assembly of a Y-shaped multiprotein complex from seven nucleoporins ». *The EMBO Journal* 21 (3): 387-97. <https://doi.org/10.1093/emboj/21.3.387>.

Macaisne, Nicolas, Laura Bellutti, Kimberley Laband, Frances Edwards, Laras Pitayunugroho, Alison Gervais, Thadshagine Ganeswaran, et al. 2022. « Synergistic stabilization of microtubules by BUB-1, HCP-1 and CLS-2 controls meiotic spindle assembly in *C. elegans* oocytes | bioRxiv ». 2022.

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.08.24.505151v1>.

Maheshwari, Richa, Mohammad M. Rahman, Seth Drey, Megan Onyundo, Gunar Fabig, Michael A. Q. Martinez, David Q. Matus, Thomas Müller-Reichert, et Orna Cohen-Fix. 2022. « The *Caenorhabditis elegans* centrosome is surrounded by a membrane reticulum, the centriculum, that affects centrosome size and function | bioRxiv ». 2022.

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.06.15.496339v1>.

Manandhar, Gaurishankar, Heide Schatten, et Peter Sutovsky. 2005. « Centrosome Reduction During Gametogenesis and Its Significance¹ ». *Biology of Reproduction* 72 (1): 2-13. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.031245>.

Mansfeld, Jörg, Stephan Güttinger, Lisa A. Hawryluk-Gara, Nelly Panté, Moritz Mall, Vincent Galy, Uta Haselmann, et al. 2006. « The Conserved Transmembrane Nucleoporin NDC1 Is Required for Nuclear Pore Complex Assembly in Vertebrate Cells ». *Molecular Cell* 22 (1): 93-103. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.02.015>.

Marcello, Matthew R., Gunasekaran Singaravelu, et Andrew Singson. 2013. « Fertilization ». In *Germ Cell Development in C. Elegans*, édité par Tim Schedl, 321-50. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4015-4_11.

Margalit, Ayelet, Miriam Segura-Totten, Yosef Gruenbaum, et Katherine L. Wilson. 2005. « Barrier-to-autointegration factor is required to segregate and enclose chromosomes within the nuclear envelope and assemble the nuclear lamina ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (9): 3290-95. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408364102>.

Marques, André, et Andrea Pedrosa-Harand. 2016. « Holocentromere Identity: From the Typical Mitotic Linear Structure to the Great Plasticity of Meiotic Holocentromeres ». *Chromosoma* 125 (4): 669-81. <https://doi.org/10.1007/s00412-016-0612-7>.

Martino, Lisa, Stéphanie Morchoisne-Bolhy, Dhanya K. Cheerambathur, Lucie Van Hove, Julien Dumont, Nicolas Joly, Arshad Desai, Valérie Doye, et Lionel Pintard. 2017. « Channel Nucleoporins Recruit PLK-1 to Nuclear Pore Complexes to Direct Nuclear Envelope Breakdown in *C. Elegans* ». *Developmental Cell* 43 (2): 157-171.e7. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.09.019>.

Masui, Yoshio. 2001. « From Oocyte Maturation to the in Vitro Cell Cycle: The History of Discoveries of Maturation-Promoting Factor (MPF) and Cytostatic Factor (CSF) ». *Differentiation* 69 (1): 1-17. <https://doi.org/10.1046/j.1432-0436.2001.690101.x>.

Mauro, Michael Sean, Gunta Celma, Vitaly Zimyanin, Magdalena M Magaj, Kimberley H Gibson, Stefanie Redemann, et Shirin Bahmanyar. 2022. « Ndc1 drives nuclear pore complex assembly independent of membrane biogenesis to promote nuclear formation and growth ». *eLife* 11: e75513. <https://doi.org/10.7554/eLife.75513>.

McGee, Matthew D., Igor Stagljar, et Daniel A. Starr. 2009. « KDP-1 Is a Nuclear Envelope KASH Protein Required for Cell-Cycle Progression ». *Journal of Cell Science* 122 (Pt 16): 2895-2905. <https://doi.org/10.1242/jcs.051607>.

McNally, Karen, Anjon Audhya, Karen Oegema, et Francis J. McNally. 2006. « Katanin Controls Mitotic and Meiotic Spindle Length ». *The Journal of Cell Biology* 175 (6): 881-91. <https://doi.org/10.1083/jcb.200608117>.

McNally, Karen L., et Francis J. McNally. 2005. « Fertilization Initiates the Transition from Anaphase I to Metaphase II during Female Meiosis in *C. Elegans* ». *Developmental Biology* 282 (1): 218-30. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.03.009>.

Mekhail, Karim, et Danesh Moazed. 2010. « The Nuclear Envelope in Genome Organization, Expression and Stability ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 11 (5): 317-28. <https://doi.org/10.1038/nrm2894>.

Mikeladze-Dvali, Tamara, Lukas von Tobel, Petr Strnad, Graham Knott, Heinrich Leonhardt, Lothar Schermelleh, et Pierre Gönczy. 2012. « Analysis of Centriole Elimination during *C. Elegans* Oogenesis ». *Development (Cambridge, England)* 139 (9): 1670-79. <https://doi.org/10.1242/dev.075440>.

Miller, M. A., V. Q. Nguyen, M. H. Lee, M. Kosinski, T. Schedl, R. M. Caprioli, et D. Greenstein. 2001. « A Sperm Cytoskeletal Protein That Signals Oocyte Meiotic Maturation and Ovulation ». *Science (New York, N.Y.)* 291 (5511): 2144-47. <https://doi.org/10.1126/science.1057586>.

Mirza, Amar N., Fernanda Gonzalez, Sierra K. Ha, et Anthony E. Oro. 2021. « The

Sky's the LEMit: New insights into nuclear structure regulation of transcription factor activity ». *Current opinion in cell biology* 68 (février): 173-80.

<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.10.006>.

Mishra, Ram Kumar, Papia Chakraborty, Alexei Arnaoutov, Beatriz M. A. Fontoura, et Mary Dasso. 2010. « The Nup107-160 Complex and Gamma-TuRC Regulate Microtubule Polymerization at Kinetochores ». *Nature Cell Biology* 12 (2): 164-69.

<https://doi.org/10.1038/ncb2016>.

Mitchell, Jana M., Jörg Mansfeld, Juliana Capitanio, Ulrike Kutay, et Richard W. Wozniak. 2010. « Pom121 links two essential subcomplexes of the nuclear pore complex core to the membrane ». *Journal of Cell Biology* 191 (3): 505-21.

<https://doi.org/10.1083/jcb.201007098>.

Molitor, Tyler P., et Paula Traktman. 2014. « Depletion of the Protein Kinase VRK1 Disrupts Nuclear Envelope Morphology and Leads to BAF Retention on Mitotic Chromosomes ». *Molecular Biology of the Cell* 25 (6): 891-903.

<https://doi.org/10.1091/mbc.E13-10-0603>.

Monen, Joost, Paul S. Maddox, Francie Hyndman, Karen Oegema, et Arshad Desai. 2005. « Differential Role of CENP-A in the Segregation of Holocentric C. Elegans Chromosomes during Meiosis and Mitosis ». *Nature Cell Biology* 7 (12): 1248-55.

<https://doi.org/10.1038/ncb1331>.

Montes de Oca, Rocío, Christopher J. Shoemaker, Marjan Gucek, Robert N. Cole, et Katherine L. Wilson. 2009. « Barrier-to-Autointegration Factor Proteome Reveals Chromatin-Regulatory Partners ». *PLoS ONE* 4 (9): e7050.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007050>.

Morales-Martínez, Adela, Agnieszka Dobrzynska, et Peter Askjaer. 2015. « Inner nuclear membrane protein LEM-2 is required for correct nuclear separation and morphology in C. elegans ». *Journal of Cell Science* 128 (6): 1090-96.

<https://doi.org/10.1242/jcs.164202>.

Mossaid, Ikram, Guillaume Chatel, Valérie Martinelli, Marcela Vaz, et Birthe Fahrenkrog. 2020. « Mitotic checkpoint protein Mad1 is required for early Nup153 recruitment to chromatin and nuclear envelope integrity ». *Journal of Cell Science* 133 (21): jcs249243. <https://doi.org/10.1242/jcs.249243>.

Musacchio, Andrea, et Arshad Desai. 2017. « A Molecular View of Kinetochores Assembly and Function ». *Biology* 6 (1): E5. <https://doi.org/10.3390/biology6010005>.

Nabeshima, Kentaro, Anne M. Villeneuve, et Monica P. Colaiácovo. 2005. « Crossing over is coupled to late meiotic prophase bivalent differentiation through asymmetric disassembly of the SC ». *Journal of Cell Biology* 168 (5): 683-89.

<https://doi.org/10.1083/jcb.200410144>.

Nakano, Hiroshi, Tatsuyoshi Funasaka, Chieko Hashizume, et Richard W. Wong. 2010. « Nucleoporin Translocated Promoter Region (Tpr) Associates with Dynein Complex, Preventing Chromosome Lagging Formation during Mitosis ». *The Journal of Biological Chemistry* 285 (14): 10841-49. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.105890>.

Newport, J.W., K.L. Wilson, et W.G. Dunphy. 1990. « A Lamin-Independent Pathway for Nuclear Envelope Assembly ». *Journal of Cell Biology* 111 (6 I): 2247-59.

<https://doi.org/10.1083/jcb.111.6.2247>.

Nichols, R. Jeremy, Matthew S. Wiebe, et Paula Traktman. 2006. « The Vaccinia-Related Kinases Phosphorylate the N' Terminus of BAF, Regulating Its Interaction with DNA and Its Retention in the Nucleus ». *Molecular Biology of the Cell* 17 (5): 2451-64.

<https://doi.org/10.1091/mbc.e05-12-1179>.

Nikolakaki, Eleni, Ilias Mylonis, et Thomas Giannakouros. 2017. « Lamin B Receptor: Interplay between Structure, Function and Localization ». *Cells* 6 (3): E28.

<https://doi.org/10.3390/cells6030028>.

O'Day, Danton H., et Aldona Budniak. 2015. « Nucleocytoplasmic Protein Translocation during Mitosis in the Social Amoebozoan Dictyostelium Discoideum ». *Biological Reviews* 90 (1): 126-41. <https://doi.org/10.1111/brv.12100>.

Oegema, Karen, et Anthony A. Hyman. 2006. « Cell Division ». *WormBook: The Online Review of C. Elegans Biology*, janvier, 1-40.

<https://doi.org/10.1895/wormbook.1.72.1>.

Olins, Ada L., Gale Rhodes, David B. Mark Welch, Monika Zwerger, et Donald E. Olins. 2010. « Lamin B receptor ». *Nucleus* 1 (1): 53-70.

<https://doi.org/10.4161/nucl.1.1.10515>.

Olmos, Yolanda, Lorna Hodgson, Judith Mantell, Paul Verkade, et Jeremy G. Carlton. 2015. « ESCRT-III Controls Nuclear Envelope Reformation ». *Nature* 522 (7555): 236-39. <https://doi.org/10.1038/nature14503>.

Olmos, Yolanda, Anna Perdrix-Rosell, et Jeremy G. Carlton. 2016. « Membrane Binding by CHMP7 Coordinates ESCRT-III-Dependent Nuclear Envelope Reformation ». *Current Biology* 26 (19): 2635-41. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.07.039>.

Orjalo, Arturo V., Alexei Arnautov, Zhouxin Shen, Yekaterina Boyarchuk, Samantha G. Zeitlin, Beatriz Fontoura, Steven Briggs, Mary Dasso, et Douglass J. Forbes. 2006. « The Nup107-160 Nucleoporin Complex Is Required for Correct Bipolar Spindle Assembly ». *Molecular Biology of the Cell* 17 (9): 3806-18.

<https://doi.org/10.1091/mbc.e05-11-1061>.

Otsuka, Shotaro, Khanh Huy Bui, Martin Schorb, M Julius Hossain, Antonio Z Politi, Birgit Koch, Mikhail Eltsov, Martin Beck, et Jan Ellenberg. 2016. « Nuclear pore assembly proceeds by an inside-out extrusion of the nuclear envelope ». Édité par Karsten Weis. *eLife* 5 (septembre): e19071. <https://doi.org/10.7554/eLife.19071>.

Otsuka, Shotaro, et Jan Ellenberg. 2018. « Mechanisms of Nuclear Pore Complex Assembly – Two Different Ways of Building One Molecular Machine ». *FEBS Letters* 592 (4): 475-88. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12905>.

Otsuka, Shotaro, Anna M. Steyer, Martin Schorb, Jean-Karim Hériché, M. Julius Hossain, Suruchi Sethi, Moritz Kueblbeck, Yannick Schwab, Martin Beck, et Jan Ellenberg. 2018. « Postmitotic Nuclear Pore Assembly Proceeds by Radial Dilatation of Small Membrane Openings ». *Nature Structural & Molecular Biology* 25 (1): 21-28. <https://doi.org/10.1038/s41594-017-0001-9>.

Patel, Jennifer T, Andrew Bottrill, Suzanna L Prosser, Sangeetha Jayaraman, Kees Straatman, Andrew M Fry, et Sue Shackleton. 2014. « Mitotic phosphorylation of SUN1 loosens its connection with the nuclear lamina while the LINC complex remains intact ». *Nucleus* 5 (5): 462-73. <https://doi.org/10.4161/nucl.36232>.

Pawar, Sumit, et Ulrike Kutay. 2021. « The Diverse Cellular Functions of Inner Nuclear Membrane Proteins ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 13 (9): a040477. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040477>.

Peeters, Bas W. A., Alexandra C. A. Piët, et Maarten Fornerod. 2022. « Generating Membrane Curvature at the Nuclear Pore: A Lipid Point of View ». *Cells* 11 (3): 469. <https://doi.org/10.3390/cells11030469>.

Penfield, Lauren, Raakhee Shankar, Erik Szentgyörgyi, Alyssa Laffitte, Michael Sean Mauro, Anjon Audhya, Thomas Müller-Reichert, et Shirin Bahmanyar. 2020. « Regulated Lipid Synthesis and LEM2/CHMP7 Jointly Control Nuclear Envelope Closure ». *The Journal of Cell Biology* 219 (5). <https://doi.org/10.1083/jcb.201908179>.

Petrovic, Stefan, George W. Mobbs, Christopher J. Bley, Si Nie, Alina Patke, et André Hoelz. 2022. « Structure and Function of the Nuclear Pore Complex ». *Cold Spring*

Harbor Perspectives in Biology, septembre, a041264.

<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041264>.

Pfitzner, Anna-Katharina, Joachim Moser von Filseck, et Aurélien Roux. 2021. « Principles of Membrane Remodeling by Dynamic ESCRT-III Polymers ». *Trends in Cell Biology* 31 (10): 856-68. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2021.04.005>.

Pimenta-Marques, A., I. Bento, C. a. M. Lopes, P. Duarte, S. C. Jana, et M. Bettencourt-Dias. 2016. « A Mechanism for the Elimination of the Female Gamete Centrosome in *Drosophila Melanogaster* ». *Science (New York, N.Y.)* 353 (6294): aaf4866. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4866>.

Pintard, Lionel, et Bruce Bowerman. 2019. « Mitotic Cell Division in *Caenorhabditis elegans* ». *Genetics* 211 (1): 35-73. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.301367>.

Poteryaev, Dmitry, Jayne M. Squirrell, Jay M. Campbell, John G. White, et Anne Spang. 2005. « Involvement of the Actin Cytoskeleton and Homotypic Membrane Fusion in ER Dynamics in *Caenorhabditis Elegans* ». *Molecular Biology of the Cell* 16 (5): 2139-53. <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-08-0726>.

Radford, Sarah J., Alexandra L. Nguyen, Karen Schindler, et Kim S. McKim. 2017. « The Chromosomal Basis of Meiotic Acentrosomal Spindle Assembly and Function in Oocytes ». *Chromosoma* 126 (3): 351-64. <https://doi.org/10.1007/s00412-016-0618-1>.

Rahman, Mohammad M., Mandy Munzig, Kiyomi Kaneshiro, Brandon Lee, Susan Strome, Thomas Müller-Reichert, et Orna Cohen-Fix. 2015. « *Caenorhabditis Elegans* Polo-like Kinase PLK-1 Is Required for Merging Parental Genomes into a Single Nucleus ». *Molecular Biology of the Cell* 26 (25): 4718-35. <https://doi.org/10.1091/mbc.E15-04-0244>.

Rajanala, Kalpana, Anshuk Sarkar, Gagan Deep Jhingan, Raina Priyadarshini, Manisha Jalan, Sagar Sengupta, et Vinay Kumar Nandicoori. 2014. « Phosphorylation of nucleoporin Tpr governs its differential localization and is required for its mitotic function ». *Journal of Cell Science* 127 (16): 3505-20. <https://doi.org/10.1242/jcs.149112>.

Rasala, Beth A., Arturo V. Orjalo, Zhouxin Shen, Steven Briggs, et Douglass J. Forbes. 2006. « ELYS Is a Dual Nucleoporin/Kinetochore Protein Required for Nuclear Pore Assembly and Proper Cell Division ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (47): 17801-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608484103>.

Rasala, Beth A., Corinne Ramos, Amnon Harel, et Douglass J. Forbes. 2008. « Capture of AT-Rich Chromatin by ELYS Recruits POM121 and NDC1 to Initiate Nuclear Pore

Assembly ». *Molecular Biology of the Cell* 19 (9): 3982-96.

<https://doi.org/10.1091/mbc.e08-01-0012>.

Ródenas, Eduardo, Cristina González-Aguilera, Cristina Ayuso, et Peter Askjaer. 2012. « Dissection of the NUP107 Nuclear Pore Subcomplex Reveals a Novel Interaction with Spindle Assembly Checkpoint Protein MAD1 in *Caenorhabditis Elegans* ». *Molecular Biology of the Cell* 23 (5): 930-44. <https://doi.org/10.1091/mbc.E11-11-0927>.

Ródenas, Eduardo, Elke P. F. Klerkx, Cristina Ayuso, Anjon Audhya, et Peter Askjaer. 2009. « Early Embryonic Requirement for Nucleoporin Nup35/NPP-19 in Nuclear Assembly ». *Developmental Biology* 327 (2): 399-409.

<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.12.024>.

Sachdev, Ruchika, Cornelia Sieverding, Matthias Flötenmeyer, et Wolfram Antonin. 2012. « The C-terminal domain of Nup93 is essential for assembly of the structural backbone of nuclear pore complexes ». *Molecular Biology of the Cell* 23 (4): 740-49. <https://doi.org/10.1091/mbc.e11-09-0761>.

Samwer, Matthias, Maximilian W.G. Schneider, Rudolf Hoefler, Philipp S. Schmalhorst, Julian G. Jude, Johannes Zuber, et Daniel W. Gerlich. 2017. « DNA Cross-Bridging Shapes a Single Nucleus from a Set of Mitotic Chromosomes ». *Cell* 170 (5): 956-972.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.038>.

Schellhaus, Anna Katharina, Paola De Magistris, et Wolfram Antonin. 2016. « Nuclear Reformation at the End of Mitosis ». *Journal of Molecular Biology* 428 (10 Pt A): 1962-85. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.016>.

Schetter, Aaron, Peter Askjaer, Fabio Piano, Iain Mattaj, et Kenneth Kemphues. 2006. « Nucleoporins NPP-1, NPP-3, NPP-4, NPP-11 and NPP-13 are required for proper spindle orientation in *C. elegans* ». *Developmental Biology* 289 (2): 360-71. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.10.038>.

Schlaitz, Anne-Lore, James Thompson, Catherine C. L. Wong, John R. Yates, et Rebecca Heald. 2013. « REEP3/4 Ensure Endoplasmic Reticulum Clearance from Metaphase Chromatin and Proper Nuclear Envelope Architecture ». *Developmental Cell* 26 (3): 315-23. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.06.016>.

Schweizer, Nina, Nisha Pawar, Matthias Weiss, et Helder Maiato. 2015. « An organelle-exclusion envelope assists mitosis and underlies distinct molecular crowding in the spindle region ». *Journal of Cell Biology* 210 (5): 695-704. <https://doi.org/10.1083/jcb.201506107>.

Sears, Rhiannon M., et Kyle J. Roux. 2020. « Diverse cellular functions of barrier-to-autointegration factor and its roles in disease ». *Journal of Cell Science* 133 (16): jcs246546. <https://doi.org/10.1242/jcs.246546>.

Severson, Aaron F., George von Dassow, et Bruce Bowerman. 2016. « Oocyte Meiotic Spindle Assembly and Function ». *Current topics in developmental biology* 116: 65-98. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.11.031>.

Sonneville, Remi, Gillian Craig, Karim Labib, Anton Gartner, et J. Julian Blow. 2015. « Both Chromosome Decondensation and Condensation Are Dependent on DNA Replication in *C. Elegans* Embryos ». *Cell Reports* 12 (3): 405-17. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.06.046>.

Sridhar, Shreyas, et Tatsuo Fukagawa. 2022. « Kinetochores Architecture Employs Diverse Linker Strategies Across Evolution ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10: 862637. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.862637>.

Starr, Daniel A. 2019. « A network of nuclear envelope proteins and cytoskeletal force generators mediates movements of and within nuclei throughout *Caenorhabditis elegans* development ». *Experimental Biology and Medicine* 244 (15): 1323-32. <https://doi.org/10.1177/1535370219871965>.

Steen, Rikke L., Sandra B. Martins, Kjetil Taskén, et Philippe Collas. 2000. « Recruitment of Protein Phosphatase 1 to the Nuclear Envelope by a-Kinase Anchoring Protein Akap149 Is a Prerequisite for Nuclear Lamina Assembly ». *Journal of Cell Biology* 150 (6): 1251-62. <https://doi.org/10.1083/jcb.150.6.1251>.

Stiekema, Merel, Marc A. M. J. van Zandvoort, Frans C. S. Ramaekers, et Jos L. V. Broers. 2020. « Structural and Mechanical Aberrations of the Nuclear Lamina in Disease ». *Cells* 9 (8): 1884. <https://doi.org/10.3390/cells9081884>.

Stirpe, Alessandro, et Patrick Heun. 2022. « The Ins and Outs of CENP-A: Chromatin Dynamics of the Centromere-Specific Histone ». *Seminars in Cell & Developmental Biology*, avril. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.04.003>.

Stuurman, N., S. Heins, et U. Aebi. 1998. « Nuclear Lamins: Their Structure, Assembly, and Interactions ». *Journal of Structural Biology* 122 (1-2): 42-66. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1998.3987>.

Sulston, J. E., E. Schierenberg, J. G. White, et 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).

Taddei, Angela, et Susan M Gasser. 2012. « Structure and Function in the Budding Yeast Nucleus ». *Genetics* 192 (1): 107-29. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.140608>.

Talamas, Jessica A., et Martin W. Hetzer. 2011. « POM121 and Sun1 play a role in early steps of interphase NPC assembly ». *Journal of Cell Biology* 194 (1): 27-37. <https://doi.org/10.1083/jcb.201012154>.

Theerthagiri, Gandhi, Nathalie Eisenhardt, Heinz Schwarz, et Wolfram Antonin. 2010. « The nucleoporin Nup188 controls passage of membrane proteins across the nuclear pore complex ». *Journal of Cell Biology* 189 (7): 1129-42. <https://doi.org/10.1083/jcb.200912045>.

Thomas, Laura, Peter Askjaer, et Geraldine Seydoux. 2022. « Multiple Mechanisms Prevent Ectopic Condensation of FG Nucleoporins in the Cytoplasm ». bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2022.08.22.504855>.

Timney, Benjamin L., Barak Raveh, Roxana Mironska, Jill M. Trivedi, Seung Joong Kim, Daniel Russel, Susan R. Wentz, Andrej Sali, et Michael P. Rout. 2016. « Simple rules for passive diffusion through the nuclear pore complex ». *Journal of Cell Biology* 215 (1): 57-76. <https://doi.org/10.1083/jcb.201601004>.

Tingey, Mark, Yichen Li, Wenlan Yu, Albert Young, et Weidong Yang. 2022. « Spelling out the roles of individual nucleoporins in nuclear export of mRNA ». *Nucleus* 13 (1): 170-93. <https://doi.org/10.1080/19491034.2022.2076965>.

Turgay, Yagmur, Matthias Eibauer, Anne E. Goldman, Takeshi Shimi, Maayan Khayat, Kfir Ben-Harush, Anna Dubrovsky-Gaupp, K. Tanuj Sapra, Robert D. Goldman, et Ohad Medalia. 2017. « The Molecular Architecture of Lamins in Somatic Cells ». *Nature* 543 (7644): 261-64. <https://doi.org/10.1038/nature21382>.

Ulbert, Sebastian, Melpomeni Platani, Stephanie Boue, et Iain W. Mattaj. 2006. « Direct Membrane Protein-DNA Interactions Required Early in Nuclear Envelope Assembly ». *The Journal of Cell Biology* 173 (4): 469-76. <https://doi.org/10.1083/jcb.200512078>.

Urade, Takeshi, Yasunori Yamamoto, Xia Zhang, Yonson Ku, et Toshiaki Sakisaka. 2014. « Identification and Characterization of TMEM33 as a Reticulon-Binding Protein ». *The Kobe Journal of Medical Sciences* 60 (3): E57-65.

Vasu, Sanjay, Sundeep Shah, Arturo Orjalo, Minkyu Park, Wolfgang H. Fischer, et Douglass J. Forbes. 2001. « Novel vertebrate nucleoporins Nup133 and Nup160 play a role in mRNA export ». *Journal of Cell Biology* 155 (3): 339-54.

<https://doi.org/10.1083/jcb.200108007>.

Velez-Aguilera, Griselda, Sylvia Nkombo Nkoula, Batool Ossareh-Nazari, Jana Link, Dimitra Paouneskou, Lucie Van Hove, Nicolas Joly, et al. 2020. « PLK-1 Promotes the Merger of the Parental Genome into a Single Nucleus by Triggering Lamina Disassembly ». *ELife* 9 (octobre): e59510. <https://doi.org/10.7554/eLife.59510>.

Vietri, Marina, Kay O. Schink, Coen Campsteijn, Catherine Sem Wegner, Sebastian W. Schultz, Liliane Christ, Sigrid B. Thoresen, Andreas Brech, Camilla Raiborg, et Harald Stenmark. 2015. « Spastin and ESCRT-III Coordinate Mitotic Spindle Disassembly and Nuclear Envelope Sealing ». *Nature* 522 (7555): 231-35. <https://doi.org/10.1038/nature14408>.

Vishnoi, Nidhi, Karthigeyan Dhanasekeran, Madeleine Chalfant, Ivan Surovstev, Mustafa K. Khokha, et C. Patrick Lusk. 2020. « Differential turnover of Nup188 controls its levels at centrosomes and role in centriole duplication ». *The Journal of Cell Biology* 219 (3): e201906031. <https://doi.org/10.1083/jcb.201906031>.

Voet, Monique van der, Christian W. H. Berends, Audrey Perreault, Tu Nguyen-Ngoc, Pierre Gönczy, Marc Vidal, Mike Boxem, et Sander van den Heuvel. 2009. « NuMA-Related LIN-5, ASPM-1, Calmodulin and Dynein Promote Meiotic Spindle Rotation Independently of Cortical LIN-5/GPR/Galpha ». *Nature Cell Biology* 11 (3): 269-77. <https://doi.org/10.1038/ncb1834>.

Vollmer, Benjamin, Michael Lorenz, Daniel Moreno-Andrés, Mona Bodenhöfer, Paola De Magistris, Susanne Adina Astrinidis, Allana Schooley, Matthias Flötenmeyer, Sebastian Leptihn, et Wolfram Antonin. 2015. « Nup153 Recruits the Nup107-160 Complex to the Inner Nuclear Membrane for Interphasic Nuclear Pore Complex Assembly ». *Developmental Cell* 33 (6): 717-28. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.04.027>.

Vollmer, Benjamin, Allana Schooley, Ruchika Sachdev, Nathalie Eisenhardt, Anna M Schneider, Cornelia Sieverding, Johannes Madlung, Uwe Gerken, Boris Macek, et Wolfram Antonin. 2012. « Dimerization and direct membrane interaction of Nup53 contribute to nuclear pore complex assembly ». *The EMBO Journal* 31 (20): 4072-84. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.256>.

Von Stetina, Jessica R., et Terry L. Orr-Weaver. 2011. « Developmental Control of Oocyte Maturation and Egg Activation in Metazoan Models ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 3 (10): a005553. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005553>.

Walther, Tobias C., Annabelle Alves, Helen Pickersgill, Isabelle Loïodice, Martin Hetzer, Vincent Galy, Bastian B. Hülsmann, et al. 2003. « The Conserved Nup107-160 Complex Is Critical for Nuclear Pore Complex Assembly ». *Cell* 113 (2): 195-206.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00235-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00235-6).

Walther, Tobias C., Maarten Fornerod, Helen Pickersgill, Martin Goldberg, Terry D. Allen, et Iain W. Mattaj. 2001. « The nucleoporin Nup153 is required for nuclear pore basket formation, nuclear pore complex anchoring and import of a subset of nuclear proteins ». *The EMBO Journal* 20 (20): 5703-14.
<https://doi.org/10.1093/emboj/20.20.5703>.

Walton, J. 1979. « Lead Aspartate, an En Bloc Contrast Stain Particularly Useful for Ultrastructural Enzymology ». *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society* 27 (10): 1337-42.
<https://doi.org/10.1177/27.10.512319>.

Wang, Songyu, Fabian B. Romano, Christine M. Field, Tim J. Mitchison, et Tom A. Rapoport. 2013. « Multiple mechanisms determine ER network morphology during the cell cycle in *Xenopus* egg extracts ». *Journal of Cell Biology* 203 (5): 801-14.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201308001>.

Wang, Xiangchuan, Boyi Hu, Zhongying Zhao, et Yu Chung Tse. 2022. « From Primordial Germ Cells to Spermatids in *Caenorhabditis Elegans* ». *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Special Issue: Mesoderm differentiation in vertebrate development and regenerative medicine by Fiona Wardle / Special Issue: Genomic and epigenetic stability and inheritance by Karen Yuen, 127 (juillet): 110-20.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.12.005>.

Wilson, Katherine L., et Roland Foisner. 2010. « Lamin-binding Proteins ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2 (4): a000554.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000554>.

Wolff, Ian D., Michael V. Tran, Timothy J. Mullen, Anne M. Villeneuve, et Sarah M. Wignall. 2016. « Assembly of *Caenorhabditis elegans* acentrosomal spindles occurs without evident microtubule-organizing centers and requires microtubule sorting by KLP-18/kinesin-12 and MESP-1 ». *Molecular Biology of the Cell* 27 (20): 3122-31.
<https://doi.org/10.1091/mbc.E16-05-0291>.

Wong, Richard W., Günter Blobel, et Elias Coutavas. 2006. « Rae1 interaction with NuMA is required for bipolar spindle formation ». *Proceedings of the National Academy of*

Sciences 103 (52): 19783-87. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609582104>.

Worman, H J, J Yuan, G Blobel, et S D Georgatos. 1988. « A lamin B receptor in the nuclear envelope. » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85 (22): 8531-34.

Wozniak, Richard, Brian Burke, et Valérie Doye. 2010. « Nuclear Transport and the Mitotic Apparatus: An Evolving Relationship ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 67 (13): 2215-30. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0325-7>.

Wu, Jingchao, et Anna Akhmanova. 2017. « Microtubule-Organizing Centers ». *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 33 (octobre): 51-75. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100616-060615>.

Wu, Zhige, Zhihua Jin, Xinhong Zhang, Na Shen, Jinbo Wang, Yingxian Zhao, et Lehe Mei. 2016. « Nup62, Associated with Spindle Microtubule Rather than Spindle Matrix, Is Involved in Chromosome Alignment and Spindle Assembly during Mitosis ». *Cell Biology International* 40 (9): 968-75. <https://doi.org/10.1002/cbin.10633>.

Xue, John Z., Eileen M. Woo, Lisa Postow, Brian T. Chait, et Hironori Funabiki. 2013. « Chromatin-Bound Xenopus Dppa2 Shapes the Nucleus by Locally Inhibiting Microtubule Assembly ». *Developmental Cell* 27 (1): 47-59. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.08.002>.

Yang, Li, Tinglu Guan, et Larry Gerace. 1997. « Integral Membrane Proteins of the Nuclear Envelope Are Dispersed throughout the Endoplasmic Reticulum during Mitosis ». *The Journal of Cell Biology* 137 (6): 1199-1210.

Yavuz, Sevil, Rachel Santarella-Mellwig, Birgit Koch, Andreas Jaedicke, Iain W. Mattaj, et Wolfram Antonin. 2010. « NLS-Mediated NPC Functions of the Nucleoporin Pom121 ». *FEBS Letters* 584 (15): 3292-98. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.07.008>.

Yokoyama, Hideki, Birgit Koch, Rudolf Walczak, Fulya Ciray-Duygu, Juan Carlos González-Sánchez, Damien P. Devos, Iain W. Mattaj, et Oliver J. Gruss. 2014. « The Nucleoporin MEL-28 Promotes RanGTP-Dependent γ -Tubulin Recruitment and Microtubule Nucleation in Mitotic Spindle Formation ». *Nature Communications* 5: 3270. <https://doi.org/10.1038/ncomms4270>.

Zierhut, Christian, Christopher Jenness, Hiroshi Kimura, et Hironori Funabiki. 2014. « Nucleosomal Regulation of Chromatin Composition and Nuclear Assembly Revealed by Histone Depletion ». *Nature Structural & Molecular Biology* 21 (7): 617-25. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2845>.

Zuccolo, Michela, Annabelle Alves, Vincent Galy, Stéphanie Bolhy, Etienne Formstecher, Victor Racine, Jean-Baptiste Sibarita, et al. 2007. « The Human Nup107-160 Nuclear Pore Subcomplex Contributes to Proper Kinetochore Functions ». *The EMBO Journal* 26 (7): 1853-64. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601642>.