

Génétique et physiologie cellulaire

M^{me} Christine PETIT, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeure

LE CIL : SUCCÈS ÉVOLUTIF D'UNE ALLIANCE SENSORI-MOTRICE

Le cil et le flagelle, deux structures apparentées, avaient jusqu'à récemment suscité un intérêt en raison de leur fonction motrice. Ainsi, les multiples cils des cellules du tractus respiratoire étaient considérés comme des freins à la colonisation bactérienne, tandis que ceux de l'oviducte assuraient la progression de l'ovocyte. Au cours des dernières années, un cil primaire a été mis en évidence dans la quasi-totalité des cellules en phase G₀ et l'organite, que l'on pensait vestigial, a acquis le statut d'un organite sensoriel, puis de centre intégrateur de signaux environnementaux (de nature mécanique, chimique, et même photonique) et intracellulaires. De la rencontre de l'étude des maladies héréditaires du cil (polykystose rénale, hydrocéphalie, syndrome de Bardet-Biedl, rétinopathies pigmentaires...) et des travaux menés chez l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*, a émergé la reconnaissance d'un ensemble de fonctions insoupçonnées de cet organite, et la compréhension de la pathogénie d'un large spectre de maladies génétiques.

Morphologie, composition moléculaire, et croissance du cil : quelques généralités

Plantes, animaux, et champignons dérivent d'un ancêtre unicellulaire flagellé aquatique. Dans tous les phylums d'organismes unicellulaires, certains représentants sont pourvus de cils ou de flagelles, protrusions cellulaires, dont la structure, hautement conservée à travers l'évolution, consiste en un ensemble de microtubules entourés d'une membrane plasmique. Les microtubules sont faits de 10 à 15 protofilaments de tubuline, polymères non covalents composés d'hétérodimères d' α - et de β -tubuline. L'assemblage des hétérodimères confère à ces protofilaments linéaires une polarité intrinsèque. L'extrémité qui se termine par l' α -tubuline définit leur bout (-), et croît lentement, tandis que l'autre extrémité,

faite de β -tubuline, définit leur bout (+), de croissance plus rapide. La polymérisation des tubulines, longtemps difficile à obtenir, nécessite l'ajout de GTP et la présence d'un chélateur de l'ion Ca^{2+} . La structure tridimensionnelle de la tubuline, résolue en 1998, a montré que ses sous-unités ont la même structure que la petite GTPase Ras. Elle a par ailleurs mis en évidence les sites de liaison du GTP de chacune des sous-unités, et a permis de conclure que la molécule de GTP profondément enfouie à l'interface entre les sous-unités α et β n'est pas hydrolysée, tandis que celle qui se situe à l'extrémité de la sous-unité β l'est lorsqu'elle entre en contact avec une sous-unité α , qui subit, lorsqu'elle hydrolyse le GTP, un changement conformationnel voisin de celui décrit pour Ras.

On distingue quatre régions dans le cil. De la base à l'apex : le corps basal ou cinétosome, la région intermédiaire ou de transition (parfois incluse dans la description du corps basal), l'axonème, et enfin la région terminale. D'un bout à l'autre, le cil a une structure cylindrique microtubulaire « de symétrie 9 ». Le corps basal comporte 9 triplets de microtubules (du centre à la périphérie, A, B et C), dont les microtubules A sont solidarisés à un cylindre central par des plaques rayonnantes. La zone de transition comporte 9 triplets à son extrémité proximale et 9 doublets périphériques à son extrémité distale, et est dépourvue de microtubules centraux. Elle est moins stable que les autres régions ciliaires, et c'est à cet endroit que se produit la rupture du cil lors de la déciliation induite dans diverses conditions expérimentales. L'axonème est composé de 9 doublets de microtubules (A et B). En règle générale, les cils primaires n'ont pas de propriété motrice et sont dépourvus de microtubules centraux. Les cils moteurs possèdent deux microtubules centraux qui sont juxtaposés. Les microtubules A de l'axonème comportent des bras externes et des bras internes de dynéine. Les bras externes sont des complexes moléculaires, qui paraissent semblables d'un doublet à l'autre. Entrent dans leur composition, trois chaînes lourdes de dynéine, deux chaînes intermédiaires qui lient les chaînes lourdes entre elles, huit chaînes légères, ainsi que trois protéines, qui amarrent le complexe au tubule A. La composition moléculaire des bras internes de dynéine, moins bien connue, serait plus variable. Les tubules A et B de deux doublets adjacents sont reliés par des liens fixes (*nexin links*), dont la composition moléculaire n'est pas élucidée. Les deux microtubules de la paire centrale portent des projections distinctes, et sont unis par un fin filament. Les tiges radiales qui les unissent aux microtubules A des doublets externes comportent une vingtaine de protéines. Les cils non motiles ne possèdent ni les microtubules centraux, ni les bras de dynéine, ni les tiges radiales. Les connaissances sur le corps basal sont beaucoup plus succinctes. Il est formé de deux centrioles, distingués en père et fils (le père formant la base sur laquelle s'édifie l'axonème), et unis par une matrice. Le corps basal comporte un certain nombre d'appendices, dont les descriptions, strictement morphologiques pour la plupart, remontent à plus de vingt ans. Dans la partie distale du corps basal, les microtubules sont liés à des structures dont la forme et l'organisation évoquent les palettes d'un moteur, et qui sont cependant appelées fibres

transitionnelles. Au nombre de 9, elles lient les microtubules les plus externes (microtubules C) à la membrane plasmique apicale du corps cellulaire. Quant au corps basal, il porte une structure dite pied basal, associée au centriole père, qui permet la nucléation des microtubules irradiant dans le cytoplasme. Un troisième type d'appendice, présent sur les deux centrioles, forme une racine striée, parfois très longue, de fonction inconnue. Ces appendices du corps basal sont présents aussi bien dans les cils primaires que dans les cils moteurs. Tout comme le matériel génétique, les centrioles se dupliquent. Les mécanismes de cette duplication sont toujours l'objet de controverse. Réplication de l'ADN et duplication des centrioles sont couplées. Une fois, les centrioles dupliqués, les deux paires de centrioles organisent les pôles du fuseau mitotique, puis formeront le centrosome de chacune des cellules filles. On ne sait pas si la paire de centrioles peut former directement un corps basal, ou si elle doit auparavant entrer transitoirement dans la composition du centrosome.

Les modifications post-traductionnelles des tubulines ont été discutées. Toutes portent sur leur extrémité C-terminale, à l'exception de l'acétylation de l' α -tubuline : polyglycylation (ajout de glycine polymérisée, jusqu'à 30 résidus, sur des résidus glutamate), polyglutamylolation (sur des résidus glutamate), hydrolyse de la tyrosine C-terminale de l' α -tubuline, excisée par une carboxypeptidase spécifique, palmitoylation de résidus cystéine. Certaines modifications post-traductionnelles sont essentielles à la formation de l'axonème, influencent la motilité du cil, ou encore régulent l'association des microtubules.

La croissance de l'axonème s'effectue à partir du bout (+) des tubules A et B du centriole père. En l'absence de synthèse protéique *in situ* mise en évidence, un système de transport susceptible d'acheminer les éléments constitutifs du cil jusqu'à leur lieu d'intégration dans la structure a été recherché. Il a été découvert par George Witman chez *Chlamydomonas*, et appelé IFT pour *intraflagellar transport*. L'observation de particules denses aux électrons dans le flagelle a été corrélée avec le transport intraflagellaire. Ces particules sont animées d'un mouvement antérograde dont la vitesse est de 2 $\mu\text{m/s}$, et d'un mouvement rétrograde de 3,5 $\mu\text{m/s}$. En 1995, Kozminski et Rosenbaum ont identifié le gène muté chez un mutant thermosensible de *Chlamydomonas*, dont la croissance du flagelle cesse à température restrictive. Ce gène code une des sous-unités de la kinésine II hétérotrimérique, moteur moléculaire qui migre de la base à l'apex du cil, associé aux particules intraflagellaires. La kinésine II est formée de deux chaînes lourdes de kinésine (les équivalents chez les mammifères sont KIF3A et KIF3B) et d'une sous-unité kinase. Trois ans plus tard, le moteur du mouvement rétrograde était identifié : une dynéine cytoplasmique qui se dirige du bout (+) vers le bout (-) des microtubules. Les précurseurs moléculaires axonémaux sont ainsi transportés, associés au complexe moteurs moléculaires-particule IFT. Un changement de moteur au sommet du flagelle assure leur retour. La validation de ce système a été apportée par des études menées chez le nématode *Caenorhabditis*

elegans. Dans cette espèce, 60 neurones sensoriels ont de longs prolongements dendritiques qui se terminent par une structure microtubulaire interne apparentée à un cil. En mettant à profit les possibilités de transgénèse, le mouvement des particules IFT et des moteurs moléculaires étiquetés par des protéines fluorescentes distinctes a pu être suivi. Leur vitesse est la même, ce qui valide l'existence des complexes IFT-kinésine II. La composition des particules IFT elles-mêmes a été en partie élucidée, après leur purification, chez *Chlamydomonas*. La quinzaine de polypeptides connus ont des caractéristiques communes. Ils sont riches en domaines superenroulés, en domaines WD-40 et en répétitions de type tétratrichoptide. La machinerie IFT est hautement conservée à travers l'évolution, aussi bien dans les flagelles que dans les cils. Parmi les espèces flagellées, un seul organisme fait exception à ce jour : le plasmodium, qui ne comporte pas un seul gène codant pour les constituants des particules IFT. Ce moyen de transport n'est pas nécessaire dans cette espèce, car le flagelle s'assemble dans le cytoplasme. Bien des interrogations demeurent. Comment les cargos sont-ils reconnus par les IFT ? Le rôle de modifications post-traductionnelles du cargo est évoqué. Quel est le mode de contrôle de l'entrée même des IFT dans le cil ou le flagelle ? Les fibres transitionnelles pourraient exercer un rôle de filtre. Comment les systèmes IFT assurent-ils le transport des protéines transmembranaires du flagelle ou du cil ?

Le mouvement du cil et du flagelle

Il est établi que la courbure ciliaire dépend du glissement des doublets de microtubules externes adjacents les uns par rapport aux autres. Ce glissement entraîne le changement de position des liens de nexine. Dès 1965, Gibbons & Rowe mettaient en évidence le rôle des bras de dynéine dans le glissement des doublets de microtubules. Les dynéines externes contrôleraient la fréquence du battement. Quant aux bras de dynéine interne, ils contrôleraient la forme du mouvement. Les concentrations locales du calcium, de l'AMP cyclique et du GMP cyclique, et l'état de phosphorylation de certaines protéines contrôlent la fréquence des battements. La structure des dynéines a ensuite été présentée et discutée.

Les multiples rôles de la motilité ciliaire : des maladies héréditaires aux mécanismes fondamentaux

Les maladies ciliaires peuvent se manifester de diverses façons au plan clinique : atteinte rénale avec formation de kystes, encombrement bronchique, infertilité masculine, obésité, rétinopathie pigmentaire, surdité, etc. D'autres troubles, plus rares, ont cependant une origine ciliaire plus fréquente. Il en est ainsi de la malformation de Dandy-Walker, qui comprend une hydrocéphalie, une agénésie partielle ou totale du vermis cérébelleux, et la présence d'un kyste entre les deux hémisphères cérébelleux. Viennent ensuite l'agénésie du corps calleux, puis le

situs inversus ou inversion des viscères. En 1976, le suédois Afzelius, attribue plusieurs cas d'infertilité masculine à l'immobilité des flagelles des spermatozoïdes, et propose que le *situs inversus* soit dû à un défaut de motilité ciliaire. Sur des coupes de spermatozoïdes provenant de patients atteints de stérilité, il met en évidence l'absence des bras externes de dynéine. Il généralise ses observations en suggérant que les sinusites, bronchite chronique et otites de l'oreille moyenne, dont souffrent également ces patients, sont en rapport avec une perte de motilité ciliaire. Des données récentes indiquent que dans 90 % des cas de dyskinésie ciliaire primitive (bronchorrhée chronique avec bronchectasies et sinusite chronique, auxquelles est associé dans la moitié des cas un *situs inversus*, définissant le syndrome de Kartagener), des défauts des bras de dynéine peuvent être observés, avec perte des bras externes le plus souvent. Quatre gènes impliqués ont été identifiés. Trois codent des protéines du complexe des bras externes de dynéine : les chaînes lourdes (DNAH5 et DNAH11) et la chaîne intermédiaire (DNAHI). Les mutations de ces trois gènes rendent compte d'environ 60 % des dyskinésies ciliaires avec anomalie des bras externes de dynéine. Le quatrième gène, RPGR, code une protéine qui, pense-t-on, a une activité régulatrice de GTPase, et serait présente, non pas dans l'axonème, mais au niveau des fibres de transition.

Nous avons ensuite discuté le rôle du cil dans l'établissement de l'asymétrie droite-gauche des viscères. Nous avons vu successivement l'asymétrie d'expression très précoce chez l'embryon de poulet, du récepteur IIA de l'activine (un membre de la famille des TGF- β), de Sonic hedgehog, du facteur de transcription HNF3 et de Nodal (autre membre de la famille des TGF- β), puis comment le groupe d'Hirokawa a découvert le rôle du cil de cellules monociliées qui tapissent le nœud primitif de Hensen dans l'induction de cette latéralisation chez les mammifères. Chez un mutant murin dont la croissance ciliaire est affectée par la perte de la sous-unité Kif3B de la kinésine-II, ce groupe a mis en évidence une latéralisation aléatoire des viscères. Il a ensuite apporté la preuve de l'existence de cils motiles animés d'un mouvement de vortex d'environ 600 révolutions par minute, dans certaines cellules du nœud de Hensen. Chez un autre mutant murin, l'asymétrie viscérale était présente mais systématiquement inversée ; les cils conservaient une motilité, dont la cinétique pouvait expliquer cette inversion. L'anomalie de latéralisation portait également sur l'expression des gènes susmentionnés, ainsi que sur celle du gène *Lefty 2*, qui s'exprime à gauche du nœud de Hensen, et code lui aussi un membre de la famille des TGF- β . Le rôle du flux liquidien (« flux nodal ») induit par le battement ciliaire dans la mise en place de l'asymétrie droite-gauche allait être démontrée par la restauration d'une asymétrie normale des viscères chez un mutant dépourvu de motilité ciliaire, grâce à la création d'un flux liquidien artificiel au niveau du nœud de Hensen. La possible motilité de ces cils avait jusque-là échappé aux observateurs, parce que les analyses en microscopie électronique des coupes de cils de cette région avaient décelé des axonèmes dépourvus de microtubules centraux (organisation

9 + 0) qui, en règle générale, caractérisent les cils dépourvus de motilité. Ces contradictions ont été levées par la mise en évidence d'une hétérogénéité de la population cellulaire au niveau du nœud de Hensen. Les cellules situées en position centrale sont pourvues d'un cil motile, tandis que celui des cellules situées en périphérie, ne l'est pas. Ces cils des cellules périphériques seraient, quant à eux, « senseurs » du mouvement des cils centraux. Ils possèdent un canal cationique, la polycystine-2 (voir ci-dessous), qui s'ouvrirait sous l'effet du flux nodal, laissant entrer les ions Ca^{2+} , qui déclencherait alors une cascade de transduction. Aussi convaincantes que soient ces expériences, au demeurant particulièrement élégantes, permettent-elles d'attribuer à ce cil toute la responsabilité de la distribution asymétrique des signaux qui provoqueront la rupture de symétrie médiane de l'embryon ? Cette fonction ciliaire est-elle conservée tout au long de l'évolution des deutérostomiens ? Dès 1952, Turing avait proposé un modèle dit « SELI » (pour « *self enhancement and lateral inhibition* »), qui rendait compte de l'auto-organisation de patrons d'expression localisée. Il s'agit d'un système à deux composants, dans lequel un activateur induit sa propre activation et celle de son inhibiteur. Or, Nodal et Lefty répondent à la définition d'un système SELI, puisque Nodal s'autoactive et active Lefty, son inhibiteur. Le battement de cils, par la différence de concentration moléculaire qu'il peut générer de part et d'autre du nœud de Hensen (le rapport de concentration est estimé à 1.5) pourrait produire une asymétrie minimale, amplifiée par le système SELI. Des travaux semblables menés chez les oiseaux et les batraciens montrent l'existence d'une asymétrie précoce d'expression des mêmes molécules, mais conduisent à penser qu'elle n'est pas orchestrée par un cil motile. L'asymétrie d'expression de ces molécules existe aussi chez les céphalochordés comme l'amphioxius, et chez les urochordés comme les ascidiens et les échinodermes. En conséquence, l'idée prévaut aujourd'hui d'une expression précoce de *Lefty* et *Nodal* hautement conservée à travers l'évolution, à laquelle est associé un générateur d'asymétrie minimale, cil motile chez les poissons et les mammifères, et générateur d'une autre nature (encore inconnue) dans les autres phylums.

Le rôle de la fonction motrice des cils multiples que portent les cellules épendymaires tapissant les ventricules cérébraux a ensuite été discuté. De rares cas de dyskinésie ciliaire associée à une hydrocéphalie (anomalie du flux du liquide céphalorachidien) chez l'homme, indiquent un rôle des cils moteurs des cellules épendymaires dans la circulation du liquide céphalorachidien. De même, chez les souris porteuses d'une mutation dans le gène qui code la chaîne lourde de dynéine H5, une hydrocéphalie se développe. Par ailleurs, persistent dans le cerveau adulte des mammifères, des sites de neurogenèse permanente. Ainsi des neuroblastes naissent continuellement dans la zone sous-ventriculaire des ventricules latéraux, et migrent ensuite en direction des bulbes olfactifs, qu'ils colonisent en formant des interneurones. En se fondant sur l'analyse du mutant *Polaris hypomorphe*, dont le défaut dans une des protéines du système IFT (IFT88) conduit à une réduction de la taille de l'axonème du cil, c'est une autre

fonction des cellules épendymaires multiciliées qui a été mise en évidence. La migration sous-ventriculaire de ces neuroblastes est en effet canalisée par une molécule répulsive, Slit2, produite par les plexus choroïdes. Le gradient que forme Slit2 suit la direction du flux du liquide céphalorachidien. Il a pu être établi que la motilité des cils des cellules épendymaires conditionne l'orientation de la migration des neuroblastes en assurant l'établissement du gradient de Slit2.

Nous nous sommes ensuite intéressés à d'autres fonctions du cil, de découverte récente. Le rôle du cil dans l'homéostasie ionique et la prolifération cellulaire, mis en évidence par la découverte de la localisation ciliaire des protéines codées par les gènes dont le déficit est à l'origine de polykystose rénale chez l'homme, a retenu notre attention. Puis, c'est au cil, carrefour de grandes voies de signalisation impliquées dans les processus morphogénétiques que nous nous sommes intéressés. Enfin, le rôle du cil dans la polarité planaire cellulaire a été brièvement évoqué.

Rôles du cil dans l'homéostasie ionique : les polykystoses rénales héréditaires et l'hydrocéphalie

En 1995 est cloné le premier gène responsable d'une polykystose rénale, *PKD1*, qui code la polycystine-1, et un an plus tard, un second, *PKD2*, qui code la polycystine-2. Cette maladie est transmise sur le mode autosomique dominant. La formation des kystes qui la caractérise est liée à l'apparition d'une mutation somatique sur le second allèle. La polycystine-2 est un canal de type TRP, de la sous-classe TRPP. Il s'associe à la polycystine-1, qui comporte 11 domaines transmembranaires et un très large domaine extracellulaire. La polycystine-1 possède un site de protéolyse extracellulaire, que l'on trouve dans les récepteurs couplés aux protéines G. Seule, la polycystine-1 active constitutivement des protéines G trimériques qui comportent une sous-unité $G\alpha$ inactivatrice ($G\alpha_i$). La liaison de la polycystine-2 à la polycystine-1 inhibe l'activité constitutive de cette dernière.

La polycystine-1 seule serait un « mécanosenseur ». Associée à la polycystine-2, elle formerait un canal mécanosensible. Un ensemble d'arguments plaide en faveur de cette propriété, mais la preuve définitive n'a toutefois pas encore été apportée. La polycystine-1 possède aussi un site de protéolyse intramembranaire, comme beaucoup d'autres protéines (précurseur de la protéine amyloïde, E-cadhérine...). Une stimulation mécanique pourrait déclencher cette protéolyse, libérant un fragment C-terminal, qui activerait une cascade de signalisation.

Le contenu liquidien des kystes qui se développent dans les polykystoses rénales suggère un rôle du cil dans l'homéostasie ionique. Le changement de polarité de la distribution d'une Na^+/K^+ -ATPase de l'apex à la base des cellules, qui survient normalement lors de la différenciation rénale, n'a pas lieu dans la polykystose liée à l'atteinte du gène *PKD1*. Ce changement de polarité accompagne normalement la substitution de la sous-unité β_2 de l'ATPase par la sous-

unité $\beta 1$, qui, en absence de la polycystine-1, ne se produit pas. Il s'en suivrait un accroissement de la concentration de l'ion Na^+ dans la lumière des kystes. Le rôle de la polycystine-1 dans le trafic cellulaire polarisé a été suggéré. L'existence d'anomalies de polarité cellulaire apico-basale dans toutes les polykystoses indique un lien avec le cil, qui reste à découvrir.

Un rôle direct de protéines ciliaires dans l'homéostasie ionique est suggéré par l'étude des hydrocéphalies. Chez un mutant Polaris hypomorphe, l'hydrocéphalie ne serait pas à imputer au défaut de motilité ciliaire des cellules épendymaires multiciliées, mais plutôt à celui de protéines ciliaires des plexus choroïdes impliquées dans l'homéostasie du chlore du liquide céphalorachidien.

Rôles du cil dans la prolifération cellulaire : polykystoses et cancer

Plusieurs mécanismes susceptibles de rendre compte de la prolifération cellulaire qui accompagne la formation des kystes ont été mis en évidence. L'un, en rapport avec le défaut de polarité cellulaire mentionné précédemment, conduit à une activation autocrine des récepteurs de l'EGF. Un autre met en jeu l'accroissement de la concentration d'AMP cyclique intracellulaire. D'autres voies de signalisation impliquant des facteurs transcriptionnels ont été décrites. La mieux documentée à ce jour est celle qui comporte le fragment cytoplasmique de la polycystine-1, le facteur de transcription STAT6, et le coactivateur transcriptionnel P100. STAT6 a une localisation tantôt nucléaire, tantôt ciliaire, qui dépend d'une part de son état de phosphorylation, et d'autre part de la stimulation mécanique du cil.

Récemment, le gène défectueux dans le syndrome de von Hippel-Lindau, caractérisé par des tumeurs vasculaires multiples, a été identifié. La protéine correspondante, VHL, se localise au niveau des cils motiles de l'épithélium respiratoire ; elle est présente au niveau de l'axonème et des corps basaux. Dans ces tumeurs, il y a perte du cil. VHL affecte la croissance des microtubules : elle interagit avec le complexe Par-3-Par-6-PKC ϵ , qui se trouve au bout (+) des microtubules, et ces protéines interagissent aussi avec le système IFT. Ces résultats indiquent l'existence des mécanismes qui lient la capture du bout (+) des microtubules à la formation du cil, et contrôlent la prolifération cellulaire.

Un autre mécanisme a été proposé pour expliquer la prolifération cellulaire dans les polykystoses. Un gène responsable de la néphronophtose a été identifié. Il code une protéine transmembranaire, dite inversine, qui comporte seize répétitions de type ankyrine, deux domaines IQ, deux boîtes D et des signaux de localisation nucléaire. Cette protéine se lie à la tubuline, la calmoduline, la β -caténine et la N-cadhérine. La différenciation précoce du rein met en jeu la voie canonique de signalisation par Wnt, puis intervient la voie non canonique de Wnt. Cette dernière est impliquée dans les phénomènes d'extension et convergence, ainsi que dans la polarité planaire. Les deux voies sont semblables dans leurs premières étapes : fixation des molécules Wnt à leur récepteur, appartenant

à la famille Frizzled et couplé aux protéines G trimériques, puis activation de Dishevelled. Dishevelled existe sous deux formes, l'une cytoplasmique, l'autre liée à la membrane. La première est impliquée dans la voie canonique, la seconde dans la voie non canonique. La forme cytoplasmique inhibe la dégradation de la β -caténine, qui exerce alors son activité transcriptionnelle. L'inversine, en se liant à la forme cytoplasmique de Dishevelled, la dégrade, inhibant la voie canonique. L'inversine serait donc le médiateur de la transition de la voie canonique à la voie non canonique de signalisation par Wnt. En son absence, la prolifération cellulaire se poursuivrait, d'où la formation de ces kystes. Reste à comprendre quels sont les éléments qui déterminent la transition d'une voie à l'autre lors du développement du rein. Une hypothèse particulièrement intéressante a été formulée, selon laquelle la mise en place du flux liquidien dans le tube collecteur en serait l'élément déclenchant.

Enfin, un nombre croissant de résultats indiquent la dualité fonctionnelle de protéines ciliaires. Ainsi, Ift27 et Ift88 interviennent également dans l'entrée dans le cycle cellulaire ou sa progression. Notons que la réduction de la taille du cil, obtenue par exemple par désacétylation de ses microtubules, conduit à une entrée de la cellule en mitose.

Le cil au carrefour de grandes voies de signalisation

Deux illustrations des avancées concernant le cil en tant que centre de signalisation, l'une portant sur le récepteur du PDGF (*platelet-derived growth factor*), et l'autre sur la voie Sonic hedgehog, ont été présentées.

Le récepteur du PDGF (homodimère de chaîne α) a été mis en évidence dans le cil. Son auto-phosphorylation, induite par la liaison à son ligand, déclenche l'entrée dans le cycle cellulaire *via* l'activation d'Akt et de la voie Erk.

L'inscription du cil dans la voie de signalisation par Sonic hedgehog, rapportée en 2003, a été suspectée en raison des phénotypes communs que présentaient les souris double-mutantes pour les facteurs de transcription Gli2 et Gli3 (acteurs de la voie Sonic hedgehog) et trois mutants défectueux pour les protéines Ift88, Ift172 et Kif3A, essentielles au développement du cil. Tous ces mutants avaient une anomalie de fermeture du tube neural. En utilisant des cellules qui expriment le gène rapporteur *lacZ* sous le contrôle du promoteur du gène *Patched-1*, qui code le récepteur membranaire de Sonic hedgehog, il a été montré que les mutants pour Ift88, Ift172 et Kif3A, supprimaient l'expression de *lacZ* dans les cellules ventrales du tube neural, indiquant un contrôle ciliaire de la transcription de *Patched-1*. Restait à définir comment le cil intervient dans la voie de signalisation par Sonic hedgehog, dont il est établi qu'elle contrôle la transcription de *Patched-1* lui-même. Smoothed (Smo), protéine transmembranaire, est tantôt vésiculaire, tantôt ciliaire. Patched-1 non lié à Sonic hedgehog empêche la localisation ciliaire de Smo. Sa fixation à Sonic hedgehog lève cette inhibition, et l'expression de Smo dans le cil augmente considérablement. Le facteur de trans-

cription Gli3 se comporte comme un répresseur dans cette signalisation. Il antagonise en particulier l'activité de l'activateur transcriptionnel Gli1. Smo active la transcription des gènes cibles de Gli1. C'est par la mise en évidence dans Smo, de deux acides aminés situés immédiatement après son 7^e domaine transmembranaire, requis pour son adressage au cil et non aux vésicules, que son rôle dans chacun de ces compartiments a pu être dissocié. Muté sur ces deux acides aminés, Smo, restant associé aux vésicules, n'a pas d'effet sur la transcription des gènes cibles de Gli1. Comment Smo, localisé dans le cil, agit-il sur cette transcription ? Il a été montré que Gli3 existe sous deux formes : l'une se comporte comme un activateur et l'autre comme un répresseur transcriptionnel ; cette dernière est issue d'une coupure protéolytique de la première. Smo bloquerait la protéolyse de Gli3 dans le cil. Au total, en l'absence de Sonic hedgehog, Smo est vésiculaire, Gli3 subit la coupure protéolytique, et ainsi converti en répresseur, inhibe la transcription par Gli1. En présence de Sonic hedgehog, Smo gagne le cil où il bloque la conversion protéolytique de Gli3A en répresseur, et libère ainsi l'activité transcriptionnelle de Gli1. Les deux exemples choisis illustrent la fonction de signalisation du cil, dont l'importance apparaît de plus en plus clairement.

Le cil et la polarité cellulaire dans le plan

C'est principalement la polarité dans le plan que définit la position de la touffe ciliaire des cellules sensorielles de l'oreille interne qui a retenu notre attention. Les voies de la polarité planaire ont été décrites. Elles ont été obtenus chez la drosophile. La compréhension des mécanismes sous-jacents se limite aujourd'hui à une cascade d'événements situés aux jonctions cellulaires, qui mettent en jeu une distribution asymétrique de certaines protéines, laissant sans explication la façon dont cette distribution agit sur le positionnement du kinocil, authentique cil de la touffe ciliaire de ces cellules. Enfin, à plusieurs reprises, dans le cours, a été évoqué le syndrome de Bardet-Biedl, qui associe obésité, dégénérescence rétinienne, malformations rénales, déficit olfactif et polydactylie. Douze gènes sont connus, dont trois (BBS1, BBS4 et BBS6) conduisent à des anomalies de polarité planaire de la touffe ciliaire des cellules ciliées externes. Très récemment, un complexe moléculaire dit BBSome, comportant 7 de ces protéines, a été mis en évidence. Il est associé à un facteur échangeur GDP/GTP de la petite GTPase Rab8. Des données récentes indiquent que ce complexe moléculaire, présent à la base du cil, permet le ciblage de vésicules associées à Rab8 dans cette région, induisant ainsi l'élongation de la membrane ciliaire.

QUELQUES ARTICLES ET REVUES DE RÉFÉRENCE

(Pour une bibliographie plus complète, voir le site de la chaire)

Afzelius B.A. (1976) A human syndrome caused by immotile cilia. *Science* 193, 317-9.

Afzelius B.A. (2004) Cilia-related diseases. *J. Pathol.*, 204, 470-7.

Ansley S.J., Badano J.L., Blacque O.E., Hill J., Hoskins B.E., Leitch C.C., Kim J.C., Ross A.J., Eichers E.R., Teslovich T.M., Mah A.K., Johnsen R.C., Cavender J.C., Lewis R.A., Leroux M.R., Beales P.L. & Katsanis N. (2003) Basal body dysfunction is a likely cause of pleiotropic Bardet-Biedl syndrome. *Nature*, 425, 628-33.

Banizs B., Komlosi P., Bevensee M.O., Schwiebert E.M., Bell P.D. & Yoder B.K. (2007) Altered pH(i) regulation and Na(+)/HCO₃(-) transporter activity in choroid plexus of cilia-defective *Tg737 (orpk)* mutant mouse. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 292, C1409-16.

Benzing T. & Walz G. (2006) Cilium-generated signaling : a cellular GPS ? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 15, 245-9.

Blacque O.E., Reardon M.J., Li C., McCarthy J., Mahjoub M.R., Ansley S.J., Badano J.L., Mah A.K., Beales P.L., Davidson W.S., Johnsen R.C., Audeh M., Plasterk R.H., Baillie D.L., Katsanis N., Quarmby L.M., Wicks S.R. & Leroux M.R. (2004) Loss of *C. elegans* BBS-7 and BBS-8 protein function results in cilium defects and compromised intraflagellar transport. *Genes. Dev.*, 18, 1630-42.

Boisvieux-Ulrich E., Laine M.C. & Sandoz D. (1985) The orientation of ciliary basal bodies in quail oviduct is related to the ciliary beating cycle commencement. *Biol. Cell.*, 55, 147-50.

Boisvieux-Ulrich E. & Sandoz D. (1991) Determination of ciliary polarity precedes differentiation in the epithelial cells of quail oviduct. *Biol. Cell.*, 72, 3-14.

Brown N.A. & Wolpert L. (1990) The development of handedness in left/right asymmetry. *Development*, 109, 1-9.

Christensen S.T. & Ott C.M. (2007) Cell signaling. A ciliary signaling switch. *Science*, 317, 330-1.

Christensen S.T., Pedersen L.B., Schneider L. & Satir P. (2007) Sensory cilia and integration of signal transduction in human health and disease. *Traffic*, 8, 97-109.

Cole D.G., Chinn S.W., Wedaman K.P., Hall K., Vuong T. & Scholey J.M. (1993) Novel heterotrimeric kinesin-related protein purified from sea urchin eggs. *Nature*, 366, 268-70.

Cole D.G., Diener D.R., Himelblau A.L., Beech P.L., Fuster J.C. & Rosenbaum J.L. (1998) Chlamydomonas kinesin-II-dependent intraflagellar transport (IFT) : IFT particles contain proteins required for ciliary assembly in *Caenorhabditis elegans* sensory neurons. *J. Cell. Biol.*, 141, 993-1008.

Corbit K.C., Aanstad P., Singla V., Norman A.R., Stainier D.Y. & Reiter J.F. (2005) Vertebrate Smoothed functions at the primary cilium. *Nature*, 437, 1018-21.

Deane J.A., Cole D.G., Seeley E.S., Diener D.R. & Rosenbaum J.L. (2001) Localization of intraflagellar transport protein IFT52 identifies basal body transitional fibers as the docking site for IFT particles. *Curr. Biol.*, 11, 1586-90.

Doetsch F. & Alvarez-Buylla A. (1996) Network of tangential pathways for neuronal migration in adult mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 14895-900.

Doxsey S., Zimmerman W. & Mikule K. (2005) Centrosome control of the cell cycle. *Trends Cell. Biol.*, 15, 303-11.

Essner J.J., Vogan K.J., Wagner M.K., Tabin C.J., Yost H.J. & Brueckner M. (2002) Conserved function for embryonic nodal cilia. *Nature*, 418, 37-8.

Germino G.G. (2005) Linking cilia to Wnts. *Nat. Genet.*, 37, 455-7.

Gibbons I.R. (1963) Studies on the protein components of cilia from *Tetrahymena pyriformis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 50, 1002-10.

Hagiwara H., Shibasaki S. & Ohwada N. (1992) Ciliogenesis in the human oviduct epithelium during the normal menstrual cycle. *J. Electron. Microsc. (Tokyo)*, 41, 321-9.

Hagiwara H., Aoki T., Ohwada N. & Fujimoto T. (1997) Development of striated rootlets during ciliogenesis in the human oviduct epithelium. *Cell. Tissue Res.*, 290, 39-42.

Hagiwara H., Ohwada N. & Takata K. (2004) Cell biology of normal and abnormal ciliogenesis in the ciliated epithelium. *Int. Rev. Cytol.*, 234, 101-41.

Haycraft C.J., Banizs B., Aydin-Son Y., Zhang Q., Michaud E.J. & Yoder B.K. (2005) Gli2 and Gli3 localize to cilia and require the intraflagellar transport protein Polaris for processing and function. *PLoS Genetics*, 1, e53.

Hirokawa N., Tanaka Y., Okada Y. & Takeda S. (2006) Nodal flow and the generation of left-right asymmetry. *Cell*, 125, 33-45.

Huangfu D., Liu A., Rakeman A.S., Murcia N.S., Niswander L. & Anderson K.V. (2003) Hedgehog signalling in the mouse requires intraflagellar transport proteins. *Nature*, 426, 83-7.

Johnson K.A. & Rosenbaum J.L. (1992) Polarity of flagellar assembly in *Chlamydomonas*. *J. Cell. Biol.*, 119, 1605-11.

Jurczyk A., Gromley A., Redick S., San Agustin J., Witman G., Pazour G.J., Peters D.J. & Doxsey S. (2004) Pericentrin forms a complex with intraflagellar transport proteins and polycystin-2 and is required for primary cilia assembly. *J. Cell. Biol.*, 166, 637-43.

Kawakami Y., Raya A., Raya R.M., Rodriguez-Esteban C. & Belmonte J.C. (2005) Retinoic acid signalling links left-right asymmetric patterning and bilaterally symmetric somitogenesis in the zebrafish embryo. *Nature*, 435, 165-71.

Koonce M.P. & Samsó M. (2004) Of rings and levers : the dynein motor comes of age. *Trends Cell. Biol.*, 14, 612-9.

Levin M., Thorlin T., Robinson K.R., Nogi T. & Mercola M. (2002) Asymmetries in H⁺/K⁺-ATPase and cell membrane potentials comprise a very early step in left-right patterning. *Cell*, 111, 77-89.

Li X., Luo Y., Starremans P.G., McNamara C.A., Pei Y. & Zhou J. (2005) Polycystin-1 and polycystin-2 regulate the cell cycle through the helix-loop-helix inhibitor Id2. *Nat. Cell. Biol.*, 7, 1202-12.

Lowe L.A., Supp D.M., Sampath K., Yokoyama T., Wright C.V., Potter S.S., Overbeek P. & Kuehn M.R. (1996) Conserved left-right asymmetry of nodal expression and alterations in murine situs inversus. *Nature*, 381, 158-61.

Luders J. & Stearns T. (2007) Microtubule-organizing centres : a re-evaluation. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 8, 161-67.

Nachury M.V., Loktev A.V., Zhang Q., Westlake C.J., Peranen J., Merdes A., Slusarski D.C., Scheller R.H., Bazan J.F., Sheffield V.C. & Jackson P.K. (2007) A core complex of BBS proteins cooperates with the GTPase Rab8 to promote ciliary membrane biogenesis. *Cell*, 129, 1201-13.

Nonaka S., Tanaka Y., Okada Y., Takeda S., Harada A., Kanai Y., Kido M. & Hirokawa N. (1998) Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell*, 95, 829-37.

Okada Y., Takeda S., Tanaka Y., Belmonte J.C. & Hirokawa N. (2005) Mechanism of nodal flow : a conserved symmetry breaking event in left-right axis determination. *Cell*, 121, 633-44.

Ou G., Blacque O.E., Snow J.J., Leroux M.R. & Scholey J.M. (2005) Functional coordination of intraflagellar transport motors. *Nature*, 436, 583-7.

Pazour G.J., Dickert B.L., Vucica Y., Seeley E.S., Rosenbaum J.L., Witman G.B. & Cole D.G. (2000) *Chlamydomonas IFT88* and its mouse homologue, polycystic kidney disease gene *Tg737*, are required for assembly of cilia and flagella. *J. Cell. Biol.*, 151, 709-18.

Qian F., Watnick T.J., Onuchic L.F. & Germino G.G. (1996) The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease type I. *Cell*, 87, 979-87.

Raya A. & Belmonte J.C. (2006) Left-right asymmetry in the vertebrate embryo : from early information to higher-level integration. *Nat. Rev. Genet.*, 7, 283-93.

Rohatgi R., Milenkovic L. & Scott M.P. (2007) Patched-1 regulates hedgehog signaling at the primary cilium. *Science*, 317, 372-6.

Rosenbaum J.L. & Witman G.B. (2002) Intraflagellar transport. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 3, 813-25.

Sawamoto K., Wichterle H., Gonzalez-Perez O., Cholfin J.A., Yamada M., Spassky N., Murcia N.S., Garcia-Verdugo J.M., Marin O., Rubenstein J.L., Tessier-Lavigne M., Okano H. & Alvarez-Buylla A. (2006) New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science*, 311, 629-32.

Shiratori H. & Hamada H. (2006) The left-right axis in the mouse : from origin to morphology. *Development*, 133, 2095-104.

Singla V. & Reiter J.F. (2006) The primary cilium as the cell's antenna : signaling at a sensory organelle. *Science*, 313, 629-33.

Sui H. & Downing K.H. (2006) Molecular architecture of axonemal microtubule doublets revealed by cryo-electron tomography. *Nature*, 442, 475-8.

Supp D.M., Witte D.P., Potter S.S. & Brueckner M. (1997) Mutation of an axonemal dynein affects left-right asymmetry in *inversus viscerum* mice. *Nature*, 389, 963-6.

Tabin C.J. (2006) The key to left-right asymmetry. *Cell*, 127, 27-32.

Takeda S., Yonekawa Y., Tanaka Y., Okada Y., Nonaka S. & Hirokawa N. (1999) Left-right asymmetry and kinesin superfamily protein KIF3A : new insights in determination of laterality and mesoderm induction by *kif3A*^{-/-} mice analysis. *J. Cell. Biol.*, 145, 825-36.

Tanaka Y., Okada Y. & Hirokawa N. (2005) FGF-induced vesicular release of Sonic hedgehog and retinoic acid in leftward nodal flow is critical for left-right determination. *Nature*, 435, 172-7.

They M. & Bornens M. (2006) Cell. shape and cell. division. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 18, 648-57.

Turing A.M. (1952) The chemical basis of morphogenesis. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 237, 37-72.

Wang Q., Pan J. & Snell W.J. (2006) Intraflagellar transport particles participate directly in cilium-generated signaling in *Chlamydomonas*. *Cell*, 125, 549-62.

ACTIVITÉ DE RECHERCHE DU LABORATOIRE (2006-2007)

Les avancées les plus significatives réalisées au cours de l'année 2006-2007 ont porté sur la physiologie et la physiopathologie moléculaires de la cellule sensorielle auditive, la caractérisation structurale et fonctionnelle des liens de la touffe ciliaire, des jonctions cellulaires dans les cellules ciliées et de la paroi latérale des cellules ciliées externes, ainsi que sur le trafic intracellulaire des connexines dans les cellules de soutien.

I. PHYSIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE MOLÉCULAIRES DE LA CELLULE SENSORIELLE AUDITIVE

Le neuroépithélium auditif abrite deux types de cellules sensorielles auditives : les cellules ciliées internes, authentiques cellules sensorielles, qui traitent l'information sonore et la transfèrent, *via* les neurones auditifs, aux noyaux du tronc cérébral, et les cellules ciliées externes, qui jouent un rôle d'amplificateur de la stimulation sonore. La touffe ciliaire, structure de réception du son, est composée

de plusieurs dizaines de microvillosités rigides, les stéréocils, auxquels est associé un authentique cil, le kinocil, qui disparaît lorsqu'elle a atteint sa maturité. Les stéréocils sont organisés en trois rangées, de hauteur croissante en direction du kinocil. La touffe ciliaire comporte plusieurs types de liens fibreux, les liens apicaux et un ensemble de liens latéraux. Le lien apical (*tip link*) s'étend du sommet de chaque stéréocil au côté du stéréocil plus long adjacent. Selon l'idée communément admise, ces liens apicaux jouent un rôle essentiel dans la transduction mécano-électrique. La déflexion de la touffe ciliaire induite par la stimulation sonore ferait varier la tension dans ces liens. Lors d'une stimulation dans la direction des stéréocils les plus longs, la tension qui s'exerce sur ces liens se propagerait aux canaux de transduction et provoquerait leur ouverture. Quant aux liens latéraux, leur rôle demeure inconnu. Parce que, pense-t-on, ils sont détruits dans certaines préparations tissulaires destinées aux mesures de la transduction mécano-électrique, l'idée s'est progressivement installée d'un rôle marginal de ces liens. Pourtant, ils sont conservés à travers toute l'évolution des vertébrés. Enfin, les touffes ciliaires des cellules ciliées externes, contrairement à celles des cellules ciliées internes, sont ancrées dans un gel acellulaire, la membrane tectoriale, qui est impliquée dans leur stimulation mécanique induite par le son. Des liens solidarisent l'apex des stéréocils de la rangée la plus haute avec la membrane tectoriale. Grâce à l'étude des gènes responsables de surdité chez l'homme, la composition moléculaire de ces divers liens et leur fonction s'éclaircissent peu à peu. Ci-dessous sont résumés les résultats que nous avons obtenus l'an passé sur les liens de la touffe ciliaire, en grande partie grâce à l'étude des gènes défectueux dans le syndrome de Usher. Nous avons pu établir le rôle de liens très précoces, et passés inaperçus, dans la morphogénèse de la touffe ciliaire. Nos résultats ont également contribué à la caractérisation de la composition moléculaire de liens qui unissent la base des stéréocils en croissance, ainsi qu'à la compréhension de leur fonction. Enfin, nous avons identifié un nouveau composant des liens de la touffe ciliaire des cellules ciliées externes matures, la stéréociline.

I.1. Liens de la touffe ciliaire : structure et fonction

I.1.a. Mise en évidence d'anomalies de la touffe ciliaire communes aux différents mutants murins déficients pour les protéines responsables du syndrome de Usher de type I chez l'homme : implication des liens fibreux de la touffe ciliaire immature dans sa cohésion, son orientation et la croissance différentielle des stéréocils

(Gaëlle Lefèvre, Nicolas Michalski, Vincent Michel, Raphaël Etournay, Jean-Pierre Hardelin, Léa Lepelletier, Dominique Weil, Christine Petit)

L'orientation (polarité planaire) et l'architecture en escalier de la touffe ciliaire des cellules sensorielles de l'oreille sont essentielles à la fonction de transduction mécano-électrique de ces cellules. Les mutations des gènes codant la myosine VIIa, l'harmonine (protéine sous-membranaire à domaines PDZ, organisatrice de complexes moléculaires, et se liant à l'actine), la cadhérine-23, la protocadhérine-15,

et la protéine Sans (protéine à motifs ankyrine), sont responsables des différentes formes génétiques du syndrome de Usher de type I chez l'homme. Ce syndrome associe une surdité congénitale, des troubles vestibulaires et une cécité par rétinopathie pigmentaire. Chez la souris, les mutations des gènes correspondants entraînent une désorganisation de la touffe ciliaire, qui n'a été caractérisée, chez la plupart des mutants, qu'à un stade tardif du développement. La contribution de ces protéines aux étapes les plus précoces de la morphogenèse de la touffe ciliaire n'avait donc pas été étudiée jusqu'à présent. Par une étude morphologique détaillée (en microscopie électronique à balayage) des mutants murins existants, auxquels nous avons ajouté un nouveau mutant produit au laboratoire, déficient pour toutes les isoformes de l'harmonine, nous avons pu montrer qu'il existe chez tous ces mutants des anomalies semblables (quoiqu'à des degrés variables) et très précoces de la morphogenèse de la touffe ciliaire. Il s'agit d'une fragmentation de la touffe ciliaire (le plus souvent en deux ou trois paquets de stéréocils), à laquelle s'associe un défaut d'orientation (déviation du kinocil de 25° à 50° par rapport à l'axe normal, selon le mutant). Ces anomalies ont été observées dès le 17^e jour de développement embryonnaire. De plus, des anomalies de l'élongation différentielle des stéréocils ont été constatées dans les premiers jours de vie post-natale chez ces mutants. Dans la touffe ciliaire émergente, nous avons montré que la myosine VIIa, les isoformes b de l'harmonine, ainsi que la cadhérine-23 et la protocadhérine-15 (qui entrent dans la composition de certains des liens interstéréociliaires précoces), sont toutes concentrées à la pointe des stéréocils, ce qui est en accord avec les interactions directes décrites entre ces protéines *in vitro*. Quelques jours après la naissance, l'harmonine b se déplace pour venir se localiser à la face latérale des stéréocils des deux rangées les plus petites, juste en regard du point d'insertion des liens apicaux, qui sont également constitués de cadhérine-23 et protocadhérine-15. Fait important, ce changement de localisation de l'harmonine n'est plus observé chez les mutants dépourvus de cadhérine-23 ou de protocadhérine-15. L'ensemble de ces observations nous a conduit à suggérer qu'au cours de la morphogenèse de la touffe ciliaire, les tensions qui s'exercent sur les liens interstéréociliaires latéraux et apicaux (qui sont vraisemblablement ancrés aux filaments d'actine des stéréocils *via* l'harmonine b) jouent un rôle essentiel dans sa cohésion et son orientation (pour les liens latéraux), ainsi que dans l'élongation différentielle des stéréocils (pour les liens apicaux).

I.1.b. Caractérisation du complexe moléculaire associé aux liens basaux dans les cellules ciliées de la cochlée. Rôle de ces liens dans le fonctionnement de la touffe ciliaire

(Nicolas Michalski, Vincent Michel, Amel Bahloul, Gaëlle Lefèvre, Jean-Pierre Hardelin, Dominique Weil, Christine Petit ; en collaboration avec Jérémie Barral et Pascal Martin, Institut Curie)

L'étude de gènes responsables du syndrome de Usher de type I avait permis de montrer que la cadhérine-23 et la protocadhérine-15 constituaient certains

liens latéraux dans la touffe ciliaire en croissance. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à un autre type de liens interstéréociliaires transitoires, les liens basaux, qui sont présents entre la naissance et le 12^e jour post-natal chez la souris. Il avait été montré précédemment que ces liens sont constitués principalement de la protéine *Vlgr1*, un récepteur transmembranaire couplé aux protéines G, qui possède une très longue partie extracellulaire, et dont on ne connaît pas le ligand. Le gène codant *Vlgr1* est responsable du syndrome de Usher 2C. Ce syndrome associe une surdité congénitale partielle et une cécité par rétinopathie pigmentaire, mais pas de trouble vestibulaire.

Nous avons d'abord montré que *Vlgr1* s'associe à trois autres protéines de la touffe ciliaire pour former un complexe moléculaire : l'usherine (une protéine transmembranaire, responsable du syndrome de Usher 2A), la vézatine (une autre protéine transmembranaire), et la whirline (une protéine sous-membranaire à domaines PDZ, responsable du syndrome de Usher 2D). L'existence de ce complexe s'appuie notamment sur la mise en évidence d'une délocalisation des marquages immuno-histochimiques de ces quatre protéines chez des souris mutantes dépourvues de *Vlgr1* ou de whirline. De plus, nous avons complété la description des interactions de ces protéines par des expériences de biochimie. En effet, nous avons montré que la vézatine peut se lier à l'usherine *in vitro*. Nous avons ensuite montré comment le complexe moléculaire du lien basal était transporté dans la touffe ciliaire par la myosine VIIa. Enfin, nous avons étudié les conséquences physiologiques de l'absence de ces liens basaux chez des souris mutantes dépourvues de *Vlgr1*. L'absence de *Vlgr1* n'empêche pas la mise en place des courants de transduction mécano-électrique. Néanmoins, l'amplitude de ces courants est plus faible dans les cellules ciliées externes de ces mutants que chez des souris sauvages. Enfin, l'absence de *Vlgr1* modifie l'une des propriétés les plus robustes de la transduction mécano-électrique, sa polarité unidirectionnelle. Chez des souris sauvages, les canaux de transduction mécano-électrique ne peuvent être ouverts qu'en stimulant la touffe ciliaire dans son sens excitateur, c'est à dire en direction de la rangée de stéréocils les plus longs, tandis qu'une stimulation dans la direction opposée a pour conséquence la fermeture des canaux de transduction ouverts au repos. Chez les mutants *Vlgr1*^{-/-}, l'ouverture de ces canaux s'effectue dans les deux sens de stimulation, démontrant ainsi le rôle des liens basaux dans la polarité fonctionnelle de la touffe ciliaire.

I.1.c. La stéréociline, défectueuse dans la surdité humaine héréditaire DFNB16 est un composant de liens de la touffe ciliaire des cellules ciliées externes

(Élisabeth Verpy, Michel Leibovici, Christine Petit ; en collaboration avec Guy Richardson, Brighton & Paul Avan, Clermont-Ferrand)

Il s'est avéré particulièrement difficile d'établir quelles sont les structures de la touffe ciliaire des cellules ciliées externes qui sont composées de stéréociline. Les immunomarquages réalisés en microscopie électronique à balayage ou à

transmission sur divers mutants de souris nous ont permis de conclure que la stéréociline est un constituant de deux types de liens des cellules ciliées externes : d'une part, des liens, dits d'attachement, qui s'étendent de l'extrémité apicale de la grande rangée des stéréocils de la touffe ciliaire jusqu'à la membrane tectoriale, et d'autre part, des liens qui unissent les stéréocils au sein d'une même rangée et entre les rangées (*top connectors*). Nous avons produit des souris dont le gène de la stéréociline est inactivé par recombinaison homologue. Ces souris ont une baisse de l'acuité auditive très comparable à celle observée chez les patients porteurs de mutations dans ce gène. Elle se caractérise par une perte de 40 à 50 dB qui porte sur l'ensemble des fréquences sonores testées. L'analyse morphologique de ces souris mutantes par microscopie à balayage ainsi que la mesure des courants de mécanotransduction ont permis de montrer que la touffe ciliaire des cellules ciliées externes se développe et fonctionne normalement jusqu'au 8^e jour après la naissance. Par la suite, on observe que les touffes ciliaires ne s'ancrent pas dans la membrane tectoriale sus-jacente (ils n'impriment pas l'empreinte de leur extrémité dans ce gel). Par ailleurs, la touffe ciliaire perd brutalement sa cohésion au 10^e jour après la naissance, et les connexions fibreuses qui existaient entre les stéréocils disparaissent. Par la mesure des potentiels électriques extracellulaires *in vivo*, nous avons pu conclure que la transduction mécano-électrique dans ces cellules mutantes a presque disparu. Les otoémissions acoustiques, qui traduisent l'activité des cellules ciliées externes, ne sont plus présentes. Les rares potentiels microphoniques qui peuvent être enregistrés sont asymétriques. Ceci met en évidence le fait que l'ancrage de la touffe ciliaire à la membrane tectoriale conditionne le positionnement de la touffe ciliaire, et lui permet de se maintenir dans une région où sa sensibilité à la stimulation sonore est maximale. Enfin, de façon surprenante, on constate la persistance d'un accord en fréquence (*tuning*) très précis des cellules ciliées internes aux intensités sonores fortes. Ceci amène à revoir l'idée selon laquelle l'accord en fréquence (*tuning*) des cellules ciliées internes, est dû presque totalement à l'activité des cellules ciliées externes. Nos résultats nous conduisent à considérer qu'une large part de l'accord en fréquence des cellules ciliées internes dépend des mouvements relatifs de la partie apicale de leurs corps cellulaires (lame reticulée) et de la membrane tectoriale sus-jacente. Cette dernière, même en l'absence d'ancrage à la touffe ciliaire des cellules ciliées externes, est en mesure de contribuer au *tuning* des cellules ciliées internes.

I.2. Jonctions cellulaires des cellules ciliées : rôle de la myosine VIIa aux jonctions intercellulaires serrées (*tight junctions*)

(Raphaël Etournay, Ingrid Zwaenepoel, Christine Petit, Aziz El-Amraoui ; en collaboration avec Pierre Legrain, CEA Saclay)

Le déficit de la myosine VIIa est à l'origine du syndrome de Usher 1B. Nous avons montré que la myosine VIIa fait partie du complexe d'adhérence intercellulaire vézatine/ β -caténine/E-cadhérine. Dans le but d'approfondir notre

compréhension du rôle de la myosine VIIa aux jonctions intercellulaires de l'épithélium sensoriel auditif, nous avons recherché des partenaires de liaison de la myosine VIIa qui pourraient jouer un rôle à ces jonctions, par la technique de double-hybride chez la levure, en utilisant une banque d'ADNc d'oreille interne. Shroom2, protéine à domaine PDZ, a retenu notre attention.

Nous avons montré que shroom2 lie ZO1 par un domaine distinct de celui qui fixe la myosine VIIa. Toutefois, ZO1 ne suffit pas pour recruter shroom2 à la membrane plasmique. Shroom2 est restreint aux jonctions serrées et interagit avec les filaments d'actine, qu'il stabilise. Shroom2 est particulièrement abondant aux jonctions des cellules sensorielles auditives, qui sont soumises à un stress mécanique important.

Shroom2 possède la même organisation modulaire que shroom3, i.e. un domaine PDZ en N-terminal et deux domaines ASD en C-terminal. Dans l'embryon de souris, shroom3 est situé aux jonctions d'adhérence des cellules du tube neural. Shroom3 régule la formation du réseau contractile d'actomyosine associé au complexe jonctionnel apical, en contrôlant la distribution de la myosine II. Nous proposons donc qu'au travers des interactions shroom2/myosin VIIa et shroom3/myosin II, des mécanismes semblables assurent des interactions dynamiques entre la membrane plasmique et le cytosquelette d'actine, respectivement aux jonctions serrées et aux jonctions d'adhérence.

II.2. Bases moléculaires de l'électromotilité des cellules ciliées externes

(Aziz El-Amraoui, Kirian Legendre, Christine Petit)

Les cellules ciliées externes, qui n'existent que chez les mammifères, réagissent à la variation cyclique de leur potentiel électrique de membrane induite par la stimulation sonore, par une contraction-élongation de leur paroi latérale, synchrone des cycles sonores. Ce phénomène d'électromotilité est médié par des changements de conformation de la prestine, une protéine intégrale de la membrane plasmique de ces cellules. Les cellules ciliées externes jouent ainsi un rôle amplificateur du stimulus sonore, et contribuent à l'analyse spectrale du son dans la cochlée. Leur paroi latérale est dotée d'un réseau de cytosquelette sous-cortical, dense et hautement organisé, qui leur confère leur forme particulière cylindrique. On ignore comment ce réseau se met en place et se maintient dans les différents états fonctionnels de la cellule, et comment il est lié à la prestine, la protéine effectrice de l'électromotilité.

Un crible double-hybride, effectué avec la queue de la myosine VIIa comme appât, nous a permis d'identifier la spectrine βV comme un partenaire de liaison de cette myosine. Cette sous-unité de spectrine contient un domaine de liaison à l'actine, 30 répétitions de type spectrine, et un domaine PH (*pleckstrin homology*). Nous avons pu confirmer l'interaction directe de la spectrine βV et de la myosine VIIa *in vitro* et dans la rétine et montrer leur colocalisation dans la rétine au niveau du cil connecteur des photorécepteurs. Chez les mammifères,

on dénombre quatre sous-unités β conventionnelles de la spectrine (β I à β IV), auxquelles s'ajoute la grande sous-unité β V. Nous avons montré que seules les sous-unités β II et β V sont présentes dans les cellules ciliées de l'oreille interne. La sous-unité β II est détectée uniquement dans la plaque cuticulaire de ces cellules. En revanche, la distribution subcellulaire de la sous-unité β V diffère selon le type de cellule ciliée. Dans le vestibule, sa distribution est cytoplasmique et de type vésiculaire, tandis que dans les cellules ciliées externes, la protéine est détectée au niveau du cytosquelette sous-cortical de la paroi latérale. Son adressage à la paroi latérale de ces cellules évolue parallèlement à celui de la prestine durant la phase terminale de maturation de ces cellules, caractérisée par l'apparition de l'électromotilité. Enfin, nous avons montré que la sous-unité β V de la spectrine se lie à la sous-unité α II dans les cellules ciliées externes pour former une spectrine α II/ β V, qui interagit directement avec les filaments d'actine et la protéine bande 4.1, un composant probable des piliers interposés entre la membrane plasmique et le squelette sous-cortical. Ainsi, la sous-unité β V de la spectrine, du fait de la très grande flexibilité des 30 domaines spectrines qui la composent, contribuerait-elle à maintenir l'intégrité cellulaire lors des cycles de contraction-élongation des cellules ciliées externes.

II. TRAFIC INTRACELLULAIRE DES CONNEXINES

(Francisco del Castillo, Martine Cohen-Salmon, Christine Petit ; en collaboration avec Paolo Meda, Genève & Philippe Chabrier, Institut Curie)

Par la technique de double-hybride dans la levure, nous avons identifié un nouveau partenaire de liaison des connexines, que nous avons nommé consortine. Il s'agit d'une protéine intégrale de membrane de l'appareil trans-golgien, localisée dans des vésicules intermédiaires de transport impliquées dans le trafic vers la membrane plasmique. Nous avons montré que la consortine se lie à toutes les connexines que nous avons testées (et en particulier aux connexines 26 et 30), ainsi qu'aux adaptateurs de la clathrine du trans-Golgi GGA1 et GGA2. Dans les cellules HeLa, la perturbation de l'interaction consortine-adaptateurs GGA par mutation du motif peptidique de la consortine reconnu par les GGA, empêche partiellement le ciblage des connexines à la membrane plasmique et provoque leur accumulation intracellulaire. De plus, l'abolition de l'expression de la consortine par interférence ARN entraîne une réduction de plus de 90 % du nombre de plaques jonctionnelles détectées à la membrane plasmique dans des cellules HeLa transfectées produisant des connexines, ainsi qu'une accumulation intracellulaire massive de ces connexines. Ces résultats montrent que la consortine, par son interaction avec la machinerie adaptatrice GGA qui médie l'exportation de molécules à partir du trans-Golgi, agit comme un récepteur permettant de cibler les connexines à la membrane plasmique. La consortine est le premier récepteur identifié de molécules cargos du trans-Golgi, dévolu au ciblage de protéines transmembranaires à la membrane plasmique.

III. IDENTIFICATION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA PRESBYACOUSIE

(Dominique Weil, Anne Auboïs, Christine Petit)

La presbyacousie est une surdité de perception liée au vieillissement, qui affecte principalement les sons aigus. L'existence de cas familiaux suggère fortement l'implication de facteurs génétiques. Nous avons entrepris cette étude avec l'objectif ultime de développer des outils de prévention et de traitement de la presbyacousie. Le projet est centré sur la presbyacousie précoce ou rapidement progressive, définie par un âge de début dans la cinquième décennie et des critères audiométriques (courbe audiométrique tonale par voie aérienne régulièrement descendante des sons graves aux sons aigus). Les individus malentendants doivent remplir certains autres critères (visant à exclure les formes non génétiques de surdité), à savoir l'absence d'antécédent de traumatisme sonore ou d'usage de médicaments ototoxiques. Depuis environ deux ans, nous recrutons des familles comportant au moins deux sujets malentendants, ainsi que des cas isolés de presbyacousie. Pour ce faire, nous avons établi une structure permanente d'examen audiolinguistiques au centre d'investigation clinique du Centre hospitalier national d'ophtalmologie à Paris, ainsi qu'à Bordeaux. Nous avons aussi établi un réseau thématique de recherche et de soins dévolu aux déficits sensoriels, qui inclut des équipes de l'hôpital Armand Trousseau et de l'hôpital Beaujon, à Paris, ainsi que des équipes des CHU de Clermont-Ferrand, Lyon, Toulouse, Marseille. L'analyse génétique proprement dite débute à peine. L'étude sera ensuite répliquée dans le cadre du consortium européen EuroHear, qui rassemble 25 laboratoires, et que dirige Christine Petit. Les perspectives de recherche thérapeutique à plus long terme ont conduit notre laboratoire à s'associer à des partenaires industriels au sein de l'institut Carnot « Voir et entendre » et du réseau thématique de recherche en santé (RTRS) de même intitulé, qui ont été créés récemment.

PRINCIPALES PUBLICATIONS DU LABORATOIRE (2006-2007)

2007

Cohen-Salmon M., Regnault B., Cayet N., Caille D., Demuth K., Hardelin J.-P., Janel N., Meda P. & Petit C. (2007) Connexin30 deficiency causes intrastrial fluid-blood barrier disruption within the cochlear stria vascularis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 6229-6234.

El-Amraoui A., Bahloul A. & Petit C. (2008) Myosin VII. In *Myosins : A Superfamily of Molecular Motors*, ed. Coluccio LM, pp. 353-73. New York : Springer.

Etournay R., Zwaenepoel I., Perfettini I., Legrain P., Petit C. & El-Amraoui A. (2007) Shroom2, a myosin-VIIa- and actin-binding protein, directly interacts with ZO-1 at tight junctions. *J. Cell. Sci.*, 120, 2838-50.

Hoskins B.E., Cramer C.H., Silvius D., Zou D., Raymond R.M., Orten D.J., Kimberling W.J., Smith R.J., Weil D., Petit C., Otto E.A., Xu P.X. & Hildebrandt F. (2007) Transcription factor SIX5 is mutated in patients with Branchio-Oto-Renal syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, 80, 800-804.

Jones C., Roper V.C., Foucher I., Qian D., Banizs B., Petit C., Yoder B. & Chen P. (2007) Ciliary genes link basal body polarization to planar cell polarity regulation. *Nat. Genet.*, (in press).

Lefèvre G., Michel V., Weil D., Lepelletier L., Bizard E., Wolfrum U., Harde-
lin J.-P. & Petit C. (2007) A cochlear core phenotype in USH1 mouse mutants
implicates fibrous links of the hair bundle in its cohesion, orientation, and diffe-
rential growth. (submitted).

Michalski N., Michel V., Bahloul A., Lefèvre G., Barral J., Yagi H., Charde-
noux S., Weil D., Martin P., Hardelin J.-P., Sato M. & Petit C. (2007) Molecular
characterization of the ankle link complex in cochlear hair cells and its role in
the hair bundle functioning. *J. Neurosci.*, 27, 6478-6488.

2006

Albert S., Blons H., Jonard L., Feldmann D., Chauvin P., Loundon N., Sergent-
Allaoui A., Houang M., Joannard A., Schmerber S., Delobel B., Leman J.,
Journel H., Catros H., Dollfus H., Eliot M.M., David A., Calais C., Drouin-
Garraud V., Obstoy M.F., Tran Ba Huy P., Lacombe D., Duriez F., Francannet C.,
Bitoun P., Petit C., Garabedian E.N., Couderc R., Marlin S. & Denoyelle F.
(2006) SLC26A4 gene is frequently involved in nonsyndromic hearing impair-
ment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations. *Eur. J. Hum.
Genet.*, 14, 773-779.

Delmaghani S., del Castillo F.J., Michel V., Leibovici M., Aghaie A., Ron U.,
Van Laer L., Ben-Tal N., Van Camp G., Weil D., Langa F., Lathrop M., Avan P.
& Petit C. (2006) Mutations in the gene encoding pejvakin, a newly identified
protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy.
Nat. Genet., 38, 770-778.

Dodé C., Teixeira L., Levilliers J., Fouveaut C., Bouchard P., Kottler M.-L.,
Lespinasse J., Lienhardt-Roussie A., Mathieu M., Moerman A., Morgan G.,
Murat A., Toublanc J.-E., Wolczynski S., Delpech M., Petit C., Young J. &
Hardelin J.-P. (2006) Kallmann syndrome : mutations in the genes encoding
prokineticin-2 and prokineticin receptor-2. *PLoS Genet.*, 2, 1648-1652.

Petit C. (2006) From deafness genes to hearing mechanisms : harmony and
counterpoint. *Trends Mol. Med.*, 12, 57-64.

Rouillon I., Marcolla A., Roux I., Marlin S., Feldmann D., Couderc R., Jonard L.,
Petit C., Denoyelle F., Garabedian E.N. & Loundon N. (2006) Results of cochlear
implantation in two children with mutations in the *OTOF* gene. *Int. J. Pediatr.
Otorhinolaryngol.*, 70, 689-96.

Roux I., Safieddine S., Nouvian R., Grati M., Simmler M.-C., Bahloul A., Perfettini I., Le Gall M., Rostaing P., Hamard G., Triller A., Avan P., Moser T. & Petit C. (2006) Otoferlin, defective in a human deafness form, is essential for exocytosis at the auditory ribbon synapse. *Cell*, 127, 277-289.

ENSEIGNEMENT

*1. Enseignement au titre du Collège de France***1.a. Cours au Collège de France** (6 heures)

Les jeudi 15 février, 8, 15 et 22 mars 2007

Le cil : succès évolutif d'une alliance sensori-motrice (voir résumé)

1.b. Cours à l'étranger• MONTEVIDEO — **Uruguay** (3 heures)

Mars 2007 — Invitant : Professeur Luis Barbeito, Institut Pasteur de Montevideo
« **Physiology and pathophysiology of Audition** »

« **The cohesion of the hair bundle : involved structures and mechanisms revealed by hereditary deafness** »

1.c. Séminaires sous forme d'un colloque en commun avec la chaire de « Génétique Humaine » du professeur Jean-Louis MANDEL : « **De la biologie des cils aux maladies génétiques ciliaires / From biology of cilia to cilia-related genetic diseases** », Collège de France, 3 & 4 mai 2007

Conférenciers et programme : voir le site de la chaire

Michel BORNENS (Institut Curie, Paris, France, Unité de Biologie du cycle cellulaire et de la motilité) : *Plenary lecture : From the flagellum of the unicellular ancestor to the centrosome of multicellular organisms*

Philippe BASTIN (Institut Pasteur, Paris, France, Unité Biologie Cellulaire des Trypanosomes), *How to live with 2 flagella of different age ?*

France KOLL (Centre de Génétique Moléculaire-CNRS, Gif-sur-Yvette, France), *From assembly to sensory function of cilia : the paramecium model*

Serge AMSELEM (Hôpital Henri Mondor, Créteil, France), *Molecular basis of primary ciliary dyskinesia*

Oliver BLACQUE (School of Biomolecular & Biomedical Science-Conway Institute, Dublin, Irlande), *Using C. elegans to investigate intraflagellar transport and ciliary disease*

Hernán LOPEZ-SCHIER (Laboratory of Sensory Cell Biology & Organogenesis, Centre de Regulació Genòmica — PRBB, Barcelone, Espagne) : *Plenary lecture : Centriole and cilium dynamics during the planar polarization of hair cells in the zebrafish*

Yohanns BELLAÏCHE (Institut Curie, Paris, France) : *Cell polarization in Drosophila*

Sandrine ETIENNE-MANNEVILLE (Institut Pasteur, Paris, France, Unité Polarité & Migration cellulaires) : *Conserved polarity proteins control cell migration*

José BADANO (Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay) : *Dissecting the genetic and cellular basis of oligogenic Bardet-Biedl syndrome*

Jean-Louis MANDEL (IGBMC, Illkirch, France) : *Twelve genes and more for a single syndrome : Bardet Biedl syndrome and the cilia connection*

Gregory GERMINO (Division of Nephrology, Johns Hopkins Univ. School of Medicine, Baltimore, USA) : *Plenary lecture : Cysts, cilia and corpulence*

Tania ATTIÉ-BITACH (Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France) : *The community of Meckel syndromes*

Marco PONTIOLIO (Institut Pasteur, Paris, France, Unité d'Expression génique, développement et maladies) : *HNFIb in nephrogenesis and in tubular planar cell polarization*

Sophie SAUNIER (Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France) : *Nephro-nophthisis, an other cilia disorder*

Chantal DESDOUETS (Institut Cochin, Genetic and Development Department) : *The Intraflagellar transport component IFT88/Polaris is a centrosomal protein regulating G1/S transition*

Nathalie SPASSKY (Biologie des Interactions Neurones/Glie, Hopital de la Salpêtrière, Paris, France) : *Primary cilia are required for Shh-dependent expansion of neural progenitor*

Bénédicte DURAND (Régulation génique, développement et ciliogenèse, CNRS, Villeurbanne, France) : *RFX transcription factors control ciliogenesis in drosophila and mouse*

2. Enseignements autres

M2 Génétique Humaine et Neurobiologie (Erasmus), Université Paris 7, novembre 2006 : « Hereditary sensory defects »

M2 Biologie Intégrative et Physiologie - Physiologie et physiopathologie neurosensorielle, Université Paris 6, janvier 2007 : « Transduction mécano-électrique dans les cellules sensorielles ciliées »

PRINCIPAUX SÉMINAIRES ET CONFÉRENCES SUR INVITATION 2006-2007

Hearing Rehabilitation and Innovative Inner Ear Therapy — Montpellier, France, 17 sept. 2006 — « Human hereditary deafness : from genes to the underlying pathogenic processes »

International Symposium on *Usher Syndrome and Related Disorders* — Omaha, USA, 3-6 oct. 2006 — Opening lecture : « The interrelationships between the Usher syndromes at the molecular level »

Colloque de rentrée du Collège de France « L'homme artificiel au service de la société », 12 & 13 oct. 2006 — « Des capteurs artificiels à la perception auditive »

Congrès du Bucodes « *Les nouvelles technologies au service des malentendants* » — Marseille, 14 oct. 2006 — « Les progrès de la recherche médicale pour la compréhension des surdités »

Colloque International « *Autism : Hope & Research* » — Hôtel de Ville, Paris, France, 20 oct. 2006 — « Genetics of Sensorial Disorders »

Shanghai International Conference on « *Physiological Biophysics, Audition and Vision* » (SICPB'06) — Shanghai, China, 3-7 nov. 2006 — « Usher syndrome : from the causative genes to the function of hair bundle links »

Chinese PLA General Hospital — Beijing, China, 10 nov. 2006 — « Hereditary deafness »

Journée de l'Institut de Biologie du Collège de France — Paris, 21 nov. 2006 — « Surdités héréditaires : une voie d'entrée dans la physiologie moléculaire de l'audition »

Journée d'hommage à Jean-Pierre Changeux — Collège de France, 27 nov. 2006

Hungarian Academy of Sciences — Budapest, Hungary, 23-25 feb. 2007 — Plenary lecture : « Genetics and Molecular Physiology of the Hair Bundle »

International symposium « The structure and operation of the hair bundle » — Collège de France, Paris, 27 & 28 apr. 2007 — « Hair bundle links : insight into their molecular composition and functions »

« Molecular cell dynamics — from cytoskeleton to development », SFB — Westfälische Wilhelms-Universität, Münster, Germany, 31 may 2007 — « Unconventional myosins in the hair bundle »

Académie des Sciences de Tunisie — Tunis, 12 june 2007 — « Audition : qu'avons-nous appris par la génétique des surdités ? »

Bibliothèque Nationale de Tunisie — Tunis, 12 june 2007 — « Handicaps sensoriels : comprendre pour traiter »

« Hearing and Seeing : Fighting sensory disabilities » colloquium — Collège de France, Paris, 2 & 3 july 2007 — « Usher syndrome : present knowledge and the next challenges »

Organisation de symposia et colloques

International symposium « The structure and operation of the hair bundle »
— Collège de France, Paris, 27 & 28 apr. 2007

Colloque « De la biologie des cils aux maladies génétiques ciliaires / From
biology of cilia to cilia-related genetic diseases », coorganisation avec le Pr Jean-
Louis Mandel, Collège de France, 3 & 4 mai 2007

« Hearing and Seeing : Fighting sensory disabilities » colloquium — Collège
de France, Paris, 2 & 3 july 2007