

## Reelin et développement cérébral : état de la question depuis le clonage du gène

Béatrice Bernier  
Vinciane de Bergeyck  
Catherine Lambert  
de Rouvroit  
Inès Royaux  
André M. Goffinet

Reelin est la protéine produite par le gène muté chez les souris *reeler*. *Reeler* est une mutation récessive autosomique, initialement décrite voici 50 ans. Elle provoque des anomalies de l'organisation cytoarchitectonique de nombreuses régions cérébrales, parmi lesquelles le néocortex, l'hippocampe et le cervelet. Ces anomalies, qui touchent spécifiquement la phase terminale de la mise en place des neurones au cours du développement, sont utilisées depuis longtemps comme modèle d'étude du développement cérébral. La Reelin, produite par certains neurones du système nerveux central comme les cellules de Cajal-Retzius, agit localement, de manière paracrine ou « juxtacrine », sur d'autres cellules cibles, par exemple les cellules de la plaque corticale. Ces dernières, lorsqu'elles sont mises en présence de Reelin, réagiraient en activant une cascade de phosphorylations, ce qui leur permettrait de s'ordonner correctement pour former le modèle architectonique radiaire typique de la plaque corticale précurseur du cortex normal.

Chez les animaux *reeler*, les neurones centraux sont engendrés au bon moment et en nombre normal. Ils migrent initialement dans la bonne direction le long des fibres gliales radiaires mais, une fois arrivés à proximité de leur destination, ils ne parviennent pas à s'ordonner correctement.

### Le phénotype *reeler* et le gène *reelin*

Le phénotype est le plus évident au niveau du cervelet, qui est atrophié et dont le cortex est pratiquement lisse. L'anomalie cérébelleuse est à l'origine de l'ataxie typique qui permet l'identification des animaux atteints.

L'analyse du développement cérébelleux montre que le déficit primaire est une incapacité des cellules de Purkinje de former une plaque bien organisée, et que la réduction du nombre des neurones granulaires est secondaire. Le cortex cérébral et l'hippocampe sont aussi très anormaux, avec une mauvaise définition des couches neuronales. L'analyse du développement a permis de démontrer que la préplaque se met normalement en place chez les mutants, mais que la plaque corticale est anormale. Chez l'animal normal, la plaque corticale se dépose au sein de la préplaque et la divise en deux : les neurones de Cajal-Retzius restent dans la zone marginale, alors que les neurones de la sous-plaque sont

### ADRESSES

B. Bernier : ingénieur chimiste et des bio-industries, assistante. V. de Bergeyck : docteur ès sciences, chargée de recherches. C. Lambert de Rouvroit : docteur ès sciences, chargée de recherches. I. Royaux : docteur ès sciences, FRIA. A. M. Goffinet : docteur en médecine, docteur ès sciences. Département de physiologie, Facultés universitaires Notre-Dame-de-la-Paix, 61, rue de Bruxelles, B5000 Namur, Belgique.

déplacés en dedans de la plaque corticale. La plaque corticale s'épaissit par vagues de migration successives, selon la règle du gradient dedans-dehors (*inside-outside*); c'est-à-dire que les neurones plus jeunes traversent les couches de neurones déjà installés pour se déposer à des niveaux de plus en plus superficiels du futur cortex. Chez les animaux mutants, les neurones de la plaque corticale sont mal orientés et déplacent vers la zone marginale l'ensemble des éléments de la préplaque. Tant les cellules de Cajal-Retzius que celles de la sous-plaque se retrouvent à la partie externe. De plus, les neurones de la plaque corticale ne traversent pas les couches préalablement établies mais se déposent à des niveaux progressivement plus profonds, de sorte que le gradient de maturation du cortex est inversé, dirigé de dehors en dedans (*outside-inside*) [1, 2]. De nombreuses autres régions du système nerveux sont affectées, comme l'olive bulbaire, les noyaux cochléaires, etc., de sorte que l'ensemble des neurones centraux sont touchés à des degrés divers par la mutation (*voir* revue dans [3]). A tous ces niveaux, la lésion élémentaire est semblable et consiste en un déficit de formation des profils architectoniques en fin de migration. Le système nerveux périphérique ainsi que les autres organes ne sont pas affectés. C'est surtout en

raison des anomalies uniques qu'elle engendre au cours du développement du cortex cérébral que la mutation *reeler* a été analysée en tant que modèle du développement et des malformations corticales.

Le gène muté chez les souris *reeler* a été cartographié [4, 5] puis identifié et cloné [6, 7] et appelé *reelin* (*Reln*) (pour revues, *voir* [2, 8, 9]). Il s'agit d'un gène de grande taille, entre 400 et 450 kpb, qui code pour un messager de quelque 12 kpb. Ce messager dirige la synthèse d'une protéine de 3 461 amino-acides et d'une taille prédite de 388 kDa. Il s'agit bien du gène dont les mutations produisent *reeler*, puisque des altérations au niveau de l'ADN, de l'ARN et/ou de la protéine ont été démontrées dans 5 allèles de la mutation *reeler* [10]. Depuis le clonage du gène, plusieurs travaux visent à mieux comprendre les aspects variés de la biologie de cette protéine. Nous tenterons de faire le point sur les progrès récents et d'esquisser certains développements futurs en envisageant successivement: (1) la structure génomique du gène *reelin* et les phénomènes d'épissage alternatif; (2) l'étude de la protéine au moyen d'anticorps spécifiques anti-Reelin; (3) l'étude de l'expression de la Reelin au cours du développement; (4) l'étude comparée de la Reelin et de son expres-

sion chez les vertébrés supérieurs. Enfin, nous discuterons quelques données récentes de la littérature qui jettent une lumière nouvelle sur le mécanisme d'action de la Reelin.

### Structure génomique du gène *reelin* et épissage alternatif

La structure prédite de la protéine Reelin est schématisée sur la *figure 1*. La séquence débute par un segment hydrophobe de type peptide signal. Suit un segment de 190 résidus qui ressemble (25 % d'identité) à la spondine F, une protéine sécrétée par la lame basale du tube neural embryonnaire. Un segment unique de 500 résidus est suivi de huit répétitions assez semblables de 350-390 résidus. Chacune de ces répétitions comprend un motif EGF semblable à ceux de la tenascine, flanqué de deux segments A et B qui ont également une certaine similitude entre eux. La protéine se termine par une séquence fortement basique de 33 résidus.

L'organisation génomique complète du gène *reelin* a été déterminée [11]. Le gène contient 65 exons. Ceux de la partie 5' du gène sont généralement plus petits que ceux des parties centrale et terminale. Les introns de la partie 5' sont en revanche très grands, en particulier le premier qui

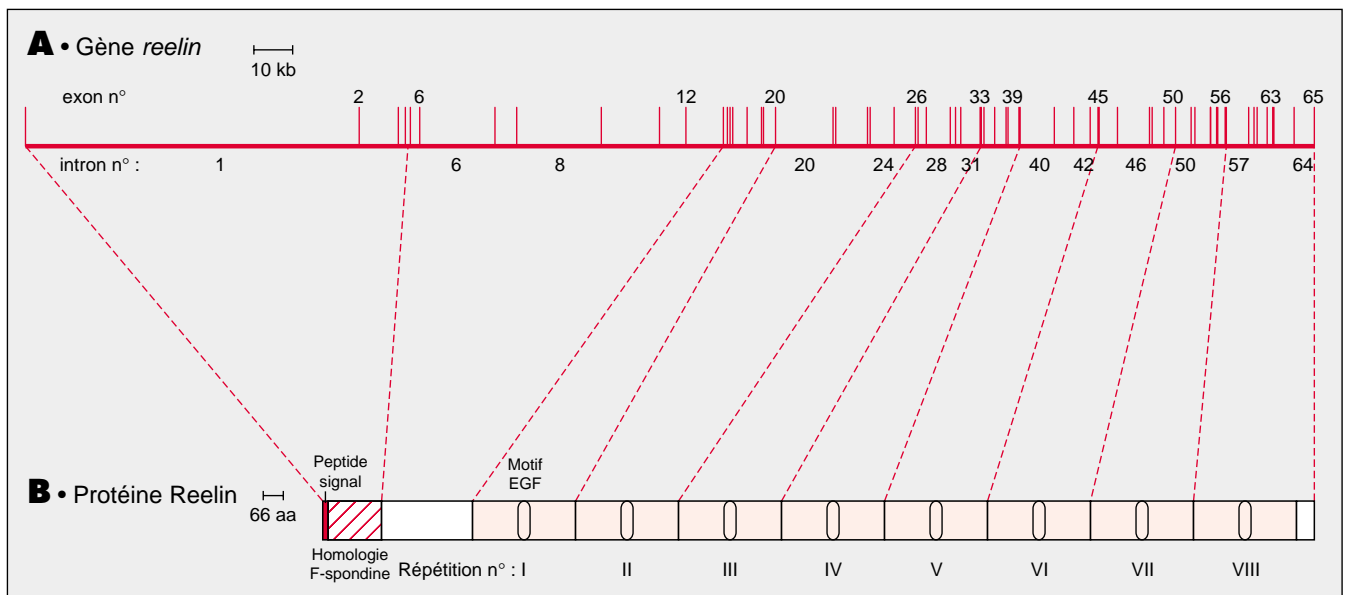


Figure 1. Organisation du gène *reelin* chez la souris. **A.** Schéma du gène, les exons étant notés par des barres verticales. **B.** Correspondance avec les régions de la protéine.

est énorme, entre 80 et 100 kpb. Par conséquent, la partie 5' du message est étalée sur une grande région d'ADN, alors que les répétitions sont codées par un bloc de moins de 200 kpb. Le rôle des grands introns est mystérieux, mais ils pourraient avoir comme fonction d'allonger le temps de transcription d'un gène impliqué à des stades précis du développement. Ils pourraient aussi contenir des séquences importantes pour la régulation de l'expression du gène: 500 nucléotides de la région promotrice de *reelin* ont été séquencés. Le promoteur ne contient pas de boîte TATA. La transcription est mise en route sur deux sites, principalement en position -280 par rapport au premier codon, au sein d'une région très riche en CG et qui possède toutes les caractéristiques d'un îlot CpG. Les îlots CpG sont des séquences anormalement riches en doublets CG non méthylés, typiques des régions promotrices ou régulatrices de l'expression [12]. Alors que l'on pensait naguère que les îlots CpG étaient surtout typiques des gènes à expression ubiquiste, il est désormais clair que cette règle souffre de nombreuses exceptions dont *reelin* est un exemple flagrant. L'analyse des sites potentiels de fixation de facteurs de transcription sur la partie connue du promoteur ne révèle rien de bien particulier. Il est donc vraisemblable que l'expression du gène *reelin* est réglée par d'autres éléments *cis*, probablement plus en 5' mais aussi dans les premiers introns. Toutes les jonctions exon-intron se conforment à la règle GT/AG, à l'exception d'une jonction GC/AG; aucun intron du type AT/AC n'a été mis en évidence. La comparaison des séquences en acides aminés et de l'organisation génomique des huit répétitions suggère que le gène *reelin* a évolué par des phénomènes de duplication successifs.

### Isolement de formes alternatives du messenger *reelin*

Une recherche systématique de formes alternatives de la Reelin a mis en évidence deux événements impliquant l'extrémité 3' du gène (figure 2). Le premier concerne

l'avant-dernier exon du gène *reelin*, qui est absent dans 10 % environ des transcrits *reelin* du cerveau. Ce 64<sup>e</sup> exon ne comporte que 6 nucléotides et code pour deux acides aminés Val-Ser. Il s'agit pourtant d'un exon à part entière car il est flanqué de deux grands introns de 4 et 6 kpb et est bordé de sites consensus d'épissage. Curieusement, ce micro-exon est absent de l'ARNm *reelin* détecté en faibles quantités dans d'autres tissus que le cerveau, comme le rein ou le foie. Les conséquences de l'inclusion du micro-exon sur la fonction de la Reelin sont inconnues. Il serait néanmoins étonnant qu'un événement aussi complexe soit dépourvu de signification, d'autant plus qu'il a été mis en évidence dans d'autres espèces, notamment chez le rat et chez l'homme.

Une seconde forme alternative du messenger de la Reelin a été isolée à partir d'ARN de cerveau embryonnaire par la technique du RACE (*rapid amplification of cDNA ends*). La séquence de l'ADNc obtenu correspond à un exon 3' terminal polyadénylé, et ne présente aucun analogue dans les banques de données. L'utilisation du site alternatif de polyadénylation a pour effet d'introduire des codons stop dans le cadre de lecture, amputant la protéine prédite d'une séquence fortement basique de 33 acides aminés. L'étude de la distri-

bution spatio-temporelle du messenger alternatif a été entreprise en vue d'en élucider la fonction. La forme 3' alternative représente 10 % à 25 % de l'ensemble des ARNm *reelin* à tous les stades du développement. Des expériences d'hybridation *in situ* ont montré que la forme alternative est produite par les cellules de Cajal-Retzius et par les cellules mitrales du bulbe olfactif, comme la Reelin classique. La protéine codée par la forme alternative du message n'a pas encore été mise en évidence.

### Étude de la protéine au moyen d'anticorps spécifiques

Pour étudier la structure et la fonction de la Reelin, il est indispensable de disposer d'anticorps dirigés contre différentes parties de la protéine. Des animaux ont été immunisés avec des peptides couplés à des protéines porteuses ainsi qu'avec des protéines de fusion correspondant à des segments de la Reelin. Les meilleurs résultats ont été obtenus en suivant la stratégie adoptée précédemment par Ogawa *et al.* [13], à savoir immuniser des souris *reeler* chez lesquelles la Reelin est absente et qui n'ont donc aucune tolérance immunitaire envers elle. Des anticorps monoclonaux ont ainsi été produits contre divers épitopes de la

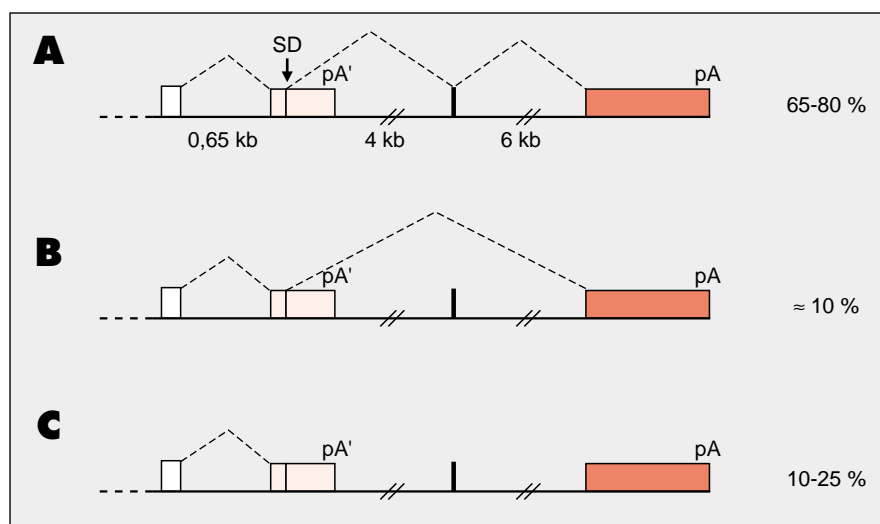


Figure 2. Schéma des trois formes de transcrits *reelin* produites par épissage alternatif dans la région 3', avec indication de leur fréquence relative. A. Forme majoritaire. B. Forme excluant le micro-exon (barre verticale noire). C. Polyadénylation alternative. SD: site donneur, pA et pA': sites de polyadénylation.

Reelin, comme cela est résumé sur la figure 3.

Ces anticorps sont utilisés pour étudier, en immunohistochimie, la synthèse de la Reelin au cours du développement, une question qui est abordée plus loin. Les anticorps sont également utiles pour détecter la Reelin *in vitro* et *in vivo* et pour essayer de définir les protéines qui interagissent avec Reelin. Tant avec l'anticorps CR-50 [13] qu'avec les nôtres, il est impossible de révéler la Reelin native dans des extraits tissulaires par les techniques classiques de *Western blot*. En revanche, la sécrétion de Reelin a pu être démontrée dans des cultures d'explants de cervelet prélevés durant la première semaine postnatale [14, 15]. La Reelin (marquée au <sup>35</sup>S) mise en évidence dans ces expériences *in vitro* possède une taille légèrement supérieure à la taille prédite de 388 kDa, et cette taille se réduit par traitement par l'enzyme PNGase F, ce qui montre que la Reelin est glycosylée, mais pas de manière extensive. Cette technique devrait permettre de mettre en évidence, par co-immunoprécipitation, des molécules qui interagissent avec Reelin *in vivo*, dans le milieu extracellulaire ainsi qu'en surface des cellules.

Une autre application intéressante des anticorps anti-Reelin est la démonstration d'un déficit de sécré-

tion de Reelin chez les souris mutantes de l'allèle Orléans. Dans cet allèle, il existe une insertion d'un élément L1 dans un exon de la partie carboxy-terminale de Reelin. Cette insertion conduit à l'exclusion de cet exon avec pour résultat un changement de cadre de lecture et une terminaison prématurée de la traduction [16]. En *Northern blot*, l'ARNm *reelin* est détectable et en quantités à peu près normales. Il est donc étonnant que l'amputation d'une petite partie de la protéine donne lieu au même phénotype que son absence. En réalité, la mutation Orléans conduit à une bonne traduction du message avec production de Reelin, mais cette dernière n'est pas sécrétée et s'accumule dans la cellule (Derer, communication personnelle). Le déficit de sécrétion a été démontré en incubant des blocs de cerveau normal et *reeler* en présence d'anticorps dirigés contre la partie aminotermine de la Reelin *ex vivo*, puis en les coupant et en révélant les coupes avec un anticorps secondaire couplé à la peroxydase. Cela permet de mettre en évidence uniquement la Reelin extracellulaire, dont la présence est démontrée dans le cerveau normal mais pas dans le cerveau *reeler*-Orléans [17].

Des travaux récents [13, 18, 19] suggèrent que l'anticorps CR50 perturbe le développement embryonnaire et

« mime » le phénotype *reeler*, et donc que son épitope (compris entre les acides aminés 251-407) est important pour la fonction de la Reelin. Notons toutefois que, par des injections intraventriculaires de l'anticorps G10 chez l'embryon de rat, nous n'avons pas pu produire de malformation corticale qui ressemble à *reeler*, ce qui est quelque peu surprenant vu que l'épitope G10 est situé à proximité de l'épitope CR50 entre les acides aminés 199-244.

### Synthèse de la Reelin au cours du développement

L'ARNm de la Reelin est détectable dans le cerveau embryonnaire de souris à partir du 12<sup>e</sup> jour (E12). Sa concentration augmente au cours du développement, culmine autour de la naissance et décroît ensuite graduellement pour atteindre un faible niveau résiduel chez l'adulte [6]. La distribution de l'ARN messager de la Reelin au cours du développement a été étudiée de manière détaillée par hybridation *in situ* au moyen d'oligonucléotides antisens radioactifs [20]. A tous les stades embryonnaires et jusqu'à quelques jours après la naissance, la synthèse de la Reelin est extrêmement forte dans des cellules de Cajal-Retzius, les premiers neurones postmitotiques à migrer vers la surface méningée. Un niveau d'expression comparable est associé aux neurones homologues de la zone marginale dans l'hippocampe. Après la naissance, une expression modérée s'installe au niveau de quelques neurones situés dans les couches plus internes du cortex, et persiste chez l'adulte. En revanche, aucun signal n'apparaît dans la plaque corticale dont l'organisation est pourtant très anormale chez les animaux *reeler*. Le messager de la Reelin est également très abondant dans les cellules mitrales du bulbe olfactif, depuis les stades précoces jusqu'à l'âge adulte. Dans la rétine, l'expression du gène *reelin* est bien détectée au niveau des cellules ganglionnaires. Dans le cervelet, un signal d'intensité moyenne est présent dans la couche des grains externes aux stades précoces. Autour de la naissance, le signal se déplace vers la couche des grains internes, parallèlement à la migration des

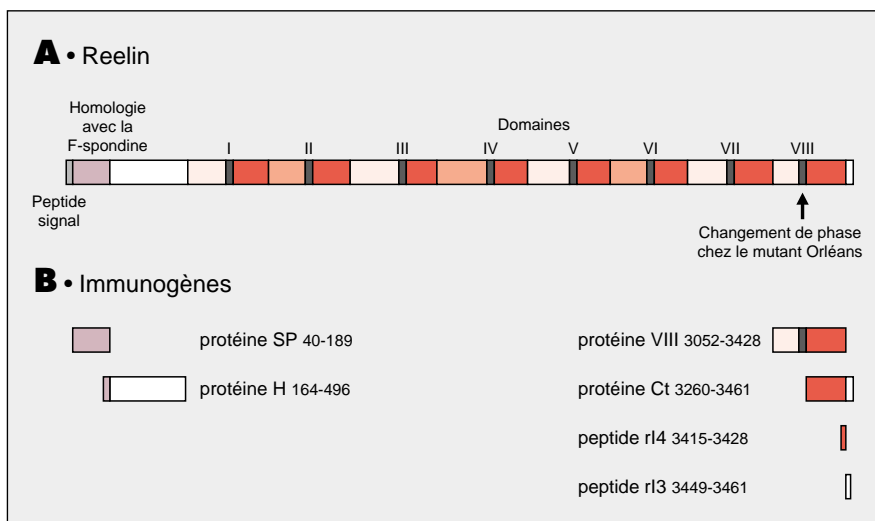


Figure 3. Schéma de la Reelin avec localisation des antigènes utilisés pour la production d'anticorps monoclonaux et la localisation approximative de leurs épitopes.

grains. En revanche, les cellules de Purkinje, dont l'arrangement est perturbé par la mutation *reeler*, ne synthétisent pas la Reelin. La corne antérieure de la moelle est fortement marquée, alors que d'autres structures synthétisent la Reelin de façon modérée. Il s'agit par exemple du futur cortex pyriforme dans le prosencéphale, du tectum mésencéphalique, et de la formation réticulée du tronc cérébral. L'ARNm de *reelin* est indétectable dans plusieurs structures clairement anormales chez le mutant, dont l'olive bulbaire et le noyau du nerf facial. Ces résultats montrent qu'il n'existe pas de corrélation entre l'expression de *reelin* et le phénotype *reeler*. Bien que l'étude ne soit pas complète, l'analyse de la distribution de la protéine fait apparaître une excellente corrélation entre la distribution de la protéine et celle de l'ARNm, suggérant que la Reelin sécrétée dans la matrice extracellulaire reste localisée à proximité immédiate des cellules productrices (figure 4A). La protéine agirait donc à courte distance, de manière juxtacrine directe ou indirecte (par exemple *via* les fibres gliales radiaires), sur les neurones en migration. Une hypothèse plausible est que Reelin serait une molécule répulsive pour les corps cellulaires. Il est en effet frappant de constater que les cellules qui expriment l'ARNm et la protéine Reelin sont toujours entourées d'une matrice extracellulaire abondante.

Concernant l'expression de *reelin*, notons encore que, dans le cortex cérébral de l'embryon humain, elle n'est pas limitée aux cellules de Cajal-Retzius (figure 4B). Un anticorps qui réagit avec la protéine humaine a en effet révélé que la Reelin est produite non seulement par les cellules de Cajal-Retzius (figure 4B) mais aussi par d'autres neurones de la zone marginale qui dérivent de la couche granulaire sous-piale [21].

### Étude comparée de la Reelin et de son expression

Depuis de nombreuses années, nous avons formulé l'hypothèse selon laquelle le produit du gène *reeler* serait intervenu dans l'évolution du cerveau des vertébrés supérieurs

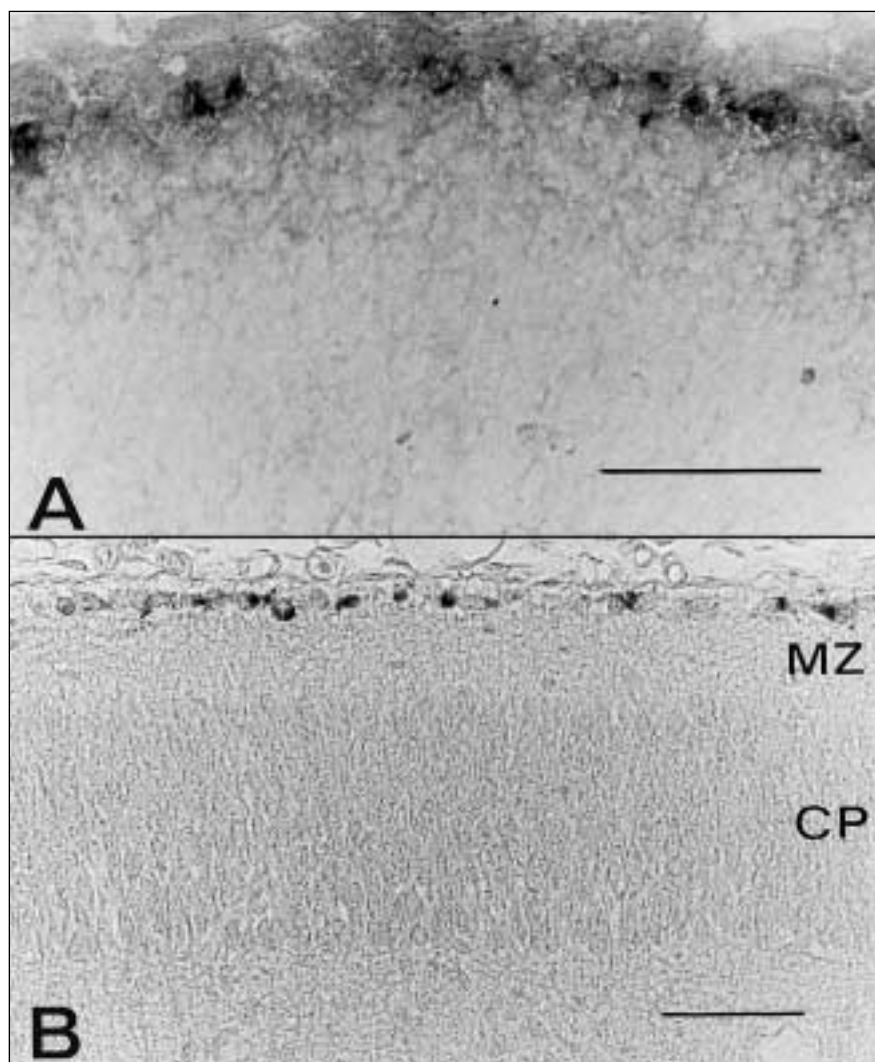


Figure 4. **Révélation immunohistochimique de la Reelin au niveau des neurones de Cajal-Retzius.** A. Cortex embryonnaire de souris à E14, anticorps anti-reelin n°74; barre: 100µm. B. Cortex embryonnaire humain à 11-12 semaines de gestation, anticorps n°142; barre: 100µm.

[22]. Brièvement, des études comparées du développement cortical ont permis de proposer deux étapes de l'évolution aboutissant au cortex des mammifères, l'acquisition d'une organisation architectonique radiaire de la plaque corticale embryonnaire, suivie de l'apparition d'un gradient de maturation dirigé de dedans en dehors (*inside-outside gradient*). Le produit du gène *reeler* serait indispensable à la réalisation de ces deux étapes. Des analyses en *Southern blot* d'ADN de différentes espèces au moyen de sondes ADNc de *reelin* mettent en évidence un signal chez tous les vertébrés, de sorte que la Reelin

n'est pas apparue *de novo* au cours de leur évolution. Si cette molécule a joué un rôle, c'est donc probablement en acquérant de nouvelles propriétés et/ou en modifiant son expression. Nous avons entrepris de caractériser partiellement la Reelin chez des espèces représentant les principales filiations des vertébrés supérieurs, à savoir le poulet, la tortue et le lézard lacertilien. A ce stade de l'étude, il est clair qu'un ARNm *reelin* est exprimé dans le cerveau embryonnaire de ces espèces et possède une taille normale d'environ 12 kpb. Les premiers fragments de séquence font apparaître une forte

Tableau I

## RÉSUMÉ DES MUTATIONS QUI AFFECTENT LE DÉVELOPPEMENT ARCHITECTONIQUE CHEZ LA SOURIS

Mutation	Gène	Chromosome	Symptômes	Pathologie	Fonction
<i>reeler</i>	<i>reelin</i>	5	ataxie	type <i>reeler</i>	protéine matrice EC
<i>scrambler yotari</i>	<i>Disabled-1</i>	4	ataxie	type <i>reeler</i>	adaptateur Y-kinase
KO	<i>Disabled-1</i>	4	ataxie	type <i>reeler</i>	adaptateur Y-kinase
KO	<i>Cdk5</i>	5	mort périnatale	type <i>reeler</i>	S/T kinase neuronale
KO	<i>p35</i>	11	convulsions	altérations axonales gradient cortical inversé anomalies architectoniques légères	activateur de Cdk5

Y-kinase: tyrosine kinase. S/T kinase: sérine/thréonine-kinase. KO: invalidation par recombinaison homologue (knock-out); matrice EC: matrice extracellulaire.

conservation, qui est de l'ordre de 90 % au niveau des acides aminés, entre ces trois espèces et la souris. L'étude de la distribution de l'ARNm *reelin* par hybridation *in situ* au moyen de sondes spécifiques de poulet font apparaître une forte expression de *reelin* dans la rétine et le bulbe olfactif, ainsi que dans le tectum. Dans la zone marginale du cortex, la synthèse est localisée dans des cellules qui correspondent peut-être aux neurones de Cajal-Retzius, mais cette synthèse est comparativement beaucoup moins élevée que dans les cellules de Cajal-Retzius des mammifères.

### Données récentes sur le mécanisme d'action de la Reelin au niveau des cellules cibles

Bien que le mécanisme d'action de la Reelin sur les neurones cibles soit inconnu, des travaux récents impliquent des réactions de phosphorylation à l'intérieur de la cellule, ce qui suggère l'existence d'une cascade de transmission du signal. Le premier argument est fourni par les observations chez des souris rendues déficientes en Cdk5 (*cyclin dependent kinase 5*), par recombinaison homologue. Comme le nom l'indique, Cdk5 est apparentée aux sérine/thréonine-kinases dépendantes des cyclines. Cependant, elle n'est pas impliquée dans le contrôle du cycle cellulaire, mais exprimée spécifiquement dans le système nerveux où elle intervient dans les phénomènes de croissance axonale. Les

souris mutantes *Cdk5*<sup>-/-</sup> manifestent des altérations axonales, mais aussi des anomalies architectoniques qui ressemblent fortement à *reeler* [23]. L'expression de *reelin* est apparemment normale chez ces animaux, indiquant que *Cdk5* agit en aval de *reelin*. La kinase Cdk5 est activée par une protéine appelée p35 et les souris déficientes en p35 ont aussi des anomalies du développement architectonique qui sont toutefois moins importantes que chez les mutants *Cdk5*<sup>-/-</sup>, ce qui suggère l'existence d'autres cofacteurs modulant l'action de cette kinase [24].

Un autre progrès important fut récemment réalisé par la caractérisation de la mutation *scrambler/yotari*. Cette mutation reproduit le phénotype *reeler*, mais définit un second groupe de complémentation. Une hypothèse formulée était que le locus *scrambler* code pour un récepteur de la Reelin. Les travaux de trois groupes ont récemment convergé pour démontrer que *scrambler* est en fait une mutation du gène *Dab1* (*Disabled1*), qui code pour une protéine intracellulaire adaptateur de tyrosine-kinases solubles de la famille Src [25]. L'ARNm et la protéine Dab1 sont présents dans le système nerveux central en développement, précisément dans les cellules cibles de la mutation *reeler*, à savoir les neurones de la plaque corticale et les futures cellules de Purkinje du cervelet. Les souris déficientes en Dab1 ont un phénotype semblable à celui de *reeler* ou *scrambler/yotari* [26]. En parallèle, deux groupes ont montré, par clonage positionnel que *Dab1* et *scrambler/yotari* correspondent au

même locus dont *scrambler* et *yotari* sont deux allèles mutés [27, 28]. Le Tableau I résume les connaissances actuelles des gènes impliqués dans la formation des modèles architectoniques chez la souris.

Ces résultats récents suggèrent fortement que la Reelin, produite par certains neurones du système nerveux central comme les cellules de Cajal-Retzius, agit localement, de manière paracrine ou « juxtacrine », sur d'autres cellules cibles, par exemple les cellules de la plaque corticale. Ces dernières, lorsqu'elles sont mises en présence de Reelin, réagiraient en activant une cascade de phosphorylations qui leur permettrait de s'ordonner correctement pour former le modèle architectonique typique du cortex normal [29]. Bien sûr, ce modèle reste encore bien imprécis. De même, nous ne connaissons actuellement rien des mécanismes qui modulent la synthèse de Reelin au niveau des neurones producteurs, ni du mode d'action de la Reelin sur la surface de la cellule cible. Toutefois, vu le rythme des travaux en cours dans plusieurs laboratoires, les réponses à ces questions ne devraient pas tarder ■

### Remerciements

Ces travaux ont reçu le soutien du Fonds national de la recherche scientifique, de la Communauté française de Belgique, du Fonds de la recherche pour l'industrie et l'agriculture et de la Fondation médicale Reine-Élisabeth.

## RÉFÉRENCES

1. Caviness VS, Rakic P. Mechanisms of cortical development: a view from mutations in mice. *Annu Rev Neurosci* 1978; 1: 297-326.
2. Goffinet AM. Mutation *reeler* et protéine Reelin: bases d'un modèle du développement cortical. *Med Sci* 1996; 12: 631-5.
3. Goffinet AM. Events governing the organization of postmigratory neurons. *Brain Res Rev* 1984; 7: 261-96.
4. Beckers MC, Bar I, Huynh-Thu T, Derroncourt C, Brunialti AL, Montagutelli X, Guénet JL, Goffinet AM. A high-resolution genetic map of mouse chromosome 5 encompassing the *reeler* (rl) locus. *Genomics* 1994; 23: 685-90.
5. Bar I, Lambert de Rouvroit C, Royaux I, Krizman DB, Derroncourt C, Ruelle D, Beckers MC, Goffinet AM. A YAC contig containing the *reeler* locus with preliminary characterization of candidate gene fragments. *Genomics* 1995; 26: 543-9.
6. D'Arcangelo G, Miao GG, Chen SC, Soares HD, Morgan JL, Curran T. A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant *reeler*. *Nature* 1995; 374: 719-3.
7. Hirotsune S, Kakahara T, Sasaki N, Hirose K, Yoshiki A, et al. The *reeler* gene encodes a protein with an EGF-like motif expressed by pioneer neurons. *Nat Genet* 1995; 10: 77-83.
8. Goffinet AM. A real gene for *reeler*. *Nature* 1995; 374: 675-6.
9. Lambert de Rouvroit C, Goffinet AM. A new view of early cortical development. *Biochem Pharmacol* 1998 (sous presse).
10. Royaux I, Bernier B, Montgomery G, Flaherty L, Goffinet AM. The Albany2 allele of *reeler*, isolated from a chlorambucil mutagenesis screen, is due to a IAP insertion with exon skipping. *Genomics* 1997; 42: 479-82.
11. Royaux I, Lambert de Rouvroit C, D'Arcangelo G, Demirov D, Goffinet AM. Genomic organization of the mouse *Reelin* gene. *Genomics* 1997; 46: 240-50.
12. Jordan B. Îlots HTF: le gène annoncé. *Med Sci* 1991; 7: 153-60.
13. Ogawa M, Miyata T, Nakajima K, Yagyu K, Seike M, Ikenaka K, Yamamoto H, Mikoshiba K. The *reeler* gene-associated antigen on Cajal-Retzius neurons is a crucial molecule for laminar organization of cortical neurons. *Neuron* 1995; 14: 899-912.
14. D'Arcangelo G, Nakajima K, Miyata T, Ogawa M, Mikoshiba K, Curran T. Reelin is a secreted Glycoprotein recognized by the CR-50 monoclonal antibody. *J Neurosci* 1997; 17: 23-31.
15. de Bergueyck V, Goffinet AM, Lambert de Rouvroit C. A panel of monoclonal antibodies against Reelin, the extracellular matrix protein defective in *reeler* mutant mice. *J Neurosci Meth* 1998 (sous presse).
16. Takahara K, Ohsumi T, Kuromitsu J, Shibata K, Sasaki N, Okazaki Y, et al. Dysfunction of the Orleans reeler gene arising from exon skipping due to transposition of a full-length copy of an active L1 sequence into the skipped exon. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 989-93.
17. de Bergueyck V, Nakajima K, Lambert de Rouvroit C, Naerhuyzen B, Goffinet AM, Miyata T, Ogawa M, Mikoshiba K. A truncated Reelin protein is produced but not secreted in the «Orléans» *reeler* mutation. *Mol Brain Res* 1997; 50: 85-90.
18. Miyata T, Nakajima K, Mikoshiba K, Ogawa M. Regulation of Purkinje cell alignment by Reelin as revealed with CR-50 antibody. *J Neurosci* 1997; 17: 3599-609.
19. Nakajima K, Mikoshiba K, Miyata T, Kudo C, Ogawa M. Disruption of hippocampal development *in vivo* by CR-50 mAb against Reelin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8196-201.
20. Schiffmann SN, Bernier B, Goffinet AM. Reelin mRNA expression during mouse brain development. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 1055-71.
21. Meyer G, Goffinet AM. Different Reelin-expressing neuronal populations in the marginal zone of the fetal human cortex. *Soc Neurosci Abstr* 1997; 23: 80.
22. Goffinet AM, Daumerie Ch, Langerwerf B, Pieau C. H-3 thymidine autoradiographic analysis of neurogenesis in reptilian cortical structures. *J Comp Neurol* 1986; 243: 106-16.
23. Oshima T, Ward JM, Huh CG, Longenecker G, Veeranna A, Pant HC, Brady RO, Martin LJ, Kulkarni AB. Targeted disruption of the cyclin-dependent kinase 5 gene results in abnormal corticogenesis, neuronal pathology and perinatal death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11173-8.
24. Chae T, Kwon YT, Bronson R, Dikkes P, Li E, Tsai LH. Mice lacking p35, a neuronal specific activator of Cdk5, display cortical lamination defects, seizures, and adult lethality. *Neuron* 1997; 18: 29-42.
25. Howell B, Gertler FO, Cooper JA. Mouse disabled1 (mDAB1): a Src binding protein implicated in neuronal development. *EMBO J* 1997; 16: 121-32.
26. Howell BW, Hawkes R, Soriano P, Cooper JA. Neuronal position in the developing brain is regulated by mouse disabled-1. *Nature* 1997; 389: 733-7.
27. Sheldon M, Rice DS, D'Arcangelo G, Yoneshima H, Nakajima K, Mikoshiba K, Howell BJ, Cooper JA, Goldowitz D, Curran T. Scrambler and *yotari* disrupt the disabled gene and produce a *reeler*-like phenotype in mice. *Nature* 1997; 389: 730-3.
28. Ware ML, Fox JW, Gonzales JL, Davis NM, Lambert de Rouvroit C, Russo CJ, Chua SC, Goffinet AM, Walsh CA. Aberrant splicing of a mouse disabled homolog, *mdab1*, in the *scrambler* mouse. *Neuron* 1997; 19: 239-49.
29. Goffinet AM. Unscrambling a disabled brain. *Nature* 1997; 389: 668-9.

## Summary

### Reelin and brain development: progress since the cloning of the *reelin* gene

Reelin is the protein defective in *reeler* mice, which are characterized by abnormal architectonic development. Reelin is an extracellular matrix protein specific of the embryonic brain and produced by Cajal-Retzius cells and a few other cell types. The *reelin* gene is about 400-450 kbp-long and composed of 65 exons; it contains a repeated structure thought to result from gene duplication. Two alternative forms of the *reelin* mRNA are found, namely facultative inclusion of a 6 nt microexon or alternative polyadenylation, the function of which is unknown. Monoclonal antibodies have been produced against both extremities of the protein and allow the study of native Reelin in embryonic brain extracts. Using these antibodies, the Orléans allele of *reeler* was shown to result from defective secretion of a truncated Reelin. When Reelin distribution was studied during development using both immunohistochemistry and *in situ* hybridization, no correlation was found between expression and the *reeler* phenotype, suggesting that Reelin acts in a juxtacrine fashion in the extracellular matrix, on adjacent target cells. The presence of *reelin* mRNA was demonstrated in the embryonic brain of birds and reptiles, a finding compatible with the hypothesis that *Reelin* played a role in cortical evolution. Recent work showed that mice deficient in the disabled1 (*Dab1*) kinase adaptor have a *reeler* phenotype but express normal amounts of Reelin, and that *scrambler/yotari*, two mutants with a *reeler* phenotype, are mutations of *Dab1*. Furthermore, mice deficient in the kinase Cdk5 and, to a lesser extent, in its cofactor p35, also have *reeler*-like brain anomalies. These findings strongly implicate a kinase cascade in the transduction of the signal initiated by *reelin* at the level of target neurons.

## TIRÉS À PART

A.M. Goffinet.