

II-D Ontogenèse et reproduction

II-D-2 Développement embryonnaire et acquisition du plan d'organisation

Ch2 Les communications cellulaires au cours du développement embryonnaire

Connaissances clés à construire	Commentaires, capacités exigibles
<p>Contrôle du développement embryonnaire</p> <p>Des cellules issues par mitose du zygote, donc avec un même génome, se différencient progressivement en fonction de leur position, ce qui aboutit à la formation de territoires, d'organes, de tissus spécialisés occupant une place spécifique dans le plan d'organisation.</p> <p>Cette évolution est contrôlée dans l'espace et dans le temps par des échanges d'informations reposant sur des communications inter et intracellulaires. Des cascades d'induction spécifient et modulent progressivement la différenciation des cellules et des territoires, modifient les caractéristiques de leurs réponses aux signaux (compétence) et spécifient de proche en proche leur devenir. In fine, ces systèmes d'information interagissent avec des réseaux de gènes, conservés dans l'évolution, dont l'expression est contrôlée par des facteurs de transcription et qui orchestrent le développement embryonnaire.</p> <p>Dans les grandes lignes, ces modèles d'interaction se retrouvent, non seulement chez tous les animaux, mais aussi chez les plantes.</p>	<p>- exploiter des données permettant d'établir un système de régulation, le principe des méthodes étant fourni (Knock-out de gènes, utilisation de gènes rapporteurs, hybridations in situ...);</p> <p>- présenter un exemple d'induction embryonnaire en s'appuyant sur un nombre limité de résultats expérimentaux;</p> <p>- identifier et définir les cellules inductrices et compétentes;</p> <p>- expliquer la relation entre induction, compétence et jeu du ou des signaux inducteurs;</p> <p>- définir et présenter les gènes de développement à partir de l'exemple des gènes homéotiques;</p> <p>- plus globalement, présenter un modèle de lien entre les phénomènes (induction, compétences), les signaux en jeu et l'évolution progressive des cellules au cours du développement embryonnaire;</p> <p><i>Liens : Modalités de signalisation intercellulaire (§ II-C) Propriétés des protéines et leurs interactions (§ I-A) Aucune argumentation ni connaissance n'est exigible.</i></p> <p><i>Il s'agit simplement d'être capable de transférer les concepts acquis sur les animaux, toutes informations nécessaires à l'analyse, à la discussion et au raisonnement étant fournies.</i></p>

Nous avons vu les principales étapes du déroulement de l'embryogenèse chez le xénope. Nous avons décrit les divisions, les mouvements cellulaires et les différenciations à l'origine de la mise en place du plan d'organisation primaire du têtard.

Toutefois, nous n'avons pas expliqué comment ces mouvements de cellules et ces différenciations étaient régulés au niveau moléculaire. L'embryogenèse implique une étroite coopération des différentes cellules : celles-ci doivent communiquer entre elles pour respecter le programme développemental.

**Comment se font les communications cellulaires au cours du développement et quelles sont leurs conséquences ?
Comment ces communications permettent-elles la mise en place coordonnée des différents organes et appareils ?**

Nous allons commencer par présenter le fonctionnement général des communications cellulaires au cours du développement. Ces communications reposent sur l'existence de facteurs diffusibles circulant entre les cellules : les facteurs paracrines.

Nous allons ensuite suivre l'embryogenèse de manière chronologique, en expliquant à chaque étape quelles sont les communications en jeu. On s'intéressera notamment aux communications qui régissent la mise en place et la régionalisation du **mésoderme**.

I) Modalités de la communication paracrine

1) Utilisation de facteurs diffusant dans le milieu extracellulaire

Au cours des étapes blastula, gastrula et embryogenèse, les cellules communiquent entre elles en émettant des facteurs chimiques qui diffusent dans le milieu intercellulaire. Ces facteurs sont pour la plupart des protéines ou peptides. On les appelle des **facteurs paracrines**.

Une cellule ou un groupe de cellules synthétise un facteur paracrine : ce sont les **émetteurs** du message. Le message lui-même est codé en **concentration de facteur paracrine**. La diffusion de ce facteur peut être facilitée, ou au

contraire freinée par la MEC.

Seules les cellules qui possèdent des **récepteurs membranaires spécialisés** pour la fixation de ce facteur paracrine peuvent percevoir ce message : ce sont les cellules réceptrices ou **cellules compétentes**. La **compétence** désigne donc la capacité qu'a une cellule à réagir à un facteur diffusible. Un tissu donné peut n'être compétent que durant une courte période : la sensibilité aux facteurs diffusibles suit un **schéma temporel** précis.

La fixation côté extracellulaire d'un facteur paracrine peut entraîner un certain nombre d'événements moléculaires côté cytosolique : il y a **transduction** du message. La transduction peut faire intervenir des cascades d'activations ou d'inactivations de molécules. In fine, la cellule va réagir à ce message en modifiant sa synthèse protéique, les propriétés de sa membrane, sa forme etc. : c'est l'**effet biologique**.

Attention à ne pas confondre les **facteurs paracrines**, qui diffusent dans le milieu extracellulaire et sont pour la plupart hydrophiles (donc incapables de traverser les membranes et de rentrer dans les cellules) et les **facteurs de transcription** qui sont présents dans le noyau ou le cytoplasme des cellules et vont aller se fixer sur l'ADN. Souvent, la réception de facteurs paracrines va activer ou réprimer certains facteurs de transcription.

2) Notion d'induction cellulaire

Quand un groupe de cellules A agit ainsi à distance sur un groupe de cellules B, on dit qu'il y a **induction** de B par A. Les inductions sont fréquentes et importantes au cours du développement. Une cellule induite voit son activité de synthèse protéique modifiée.

Prenons un exemple. Nous avons vu que l'étape développementale suivant la gastrulation est la neurulation, lors de laquelle il y a mise en place du tube neural à partir de l'ectoderme. En réalité, le **tube neural est induit par la corde** située juste en-dessous. La corde synthétise un facteur paracrine nommé **Sonic Hedgehog (SHH)** qui diffuse jusqu'à l'ectoderme. L'ectoderme est compétent pour ce facteur : il reçoit le signal et, en réponse, réalise **une constriction de son réseau d'actine** au niveau de sa ceinture d'adhérence. La gouttière neurale commence à se former. Par ailleurs, les cellules induites commencent à **synthétiser des molécules d'adhérences** qui permettront au tube neural de se refermer sur lui-même. Il y a donc induction du tube neural par la corde.

Souvent, une même cellule reçoit plusieurs facteurs paracrines, qui n'ont pas tous la même concentration. On parle de **combinatoire de facteurs paracrines** (sorte de « cocktail »). Cette combinatoire de facteurs paracrines active ou réprime une certaine **combinatoire de facteurs de transcription**. Ceux-ci modifient l'expression génétique et ainsi déterminer le devenir de la cellule.

3) Méthodes permettant de suivre l'expression d'un gène et de qualifier ses effets phénotypiques

Voir TP ADN recombinant et pour le knockout :

<https://planet-vie.ens.fr/article/1813/invalidation-gene-knock-out>

Gènes rapporteurs : l'objectif est de savoir où s'exprime un gène donné. Pour cela, on place un gène codant un produit bleu (souvent le gène de la bêta-galactosidase) juste après le promoteur du gène en question. Partout où le gène est exprimé, on retrouvera le produit bleu.

Hybridations in situ : l'objectif est là aussi de savoir où s'exprime un gène donné. Pour cela, on utilise un ARN antisens, c'est à dire complémentaire de l'ARNm qui est transcrit à partir de ce gène. Cet ARN antisens est fluorescent : partout où le gène est transcrit, l'ARNm et l'antisens s'hybrident par complémentarité des bases et on observe de la fluorescence.

Puces à ADN : l'objectif est de quantifier le taux d'expression de nombreux gènes dans une population cellulaire, et aussi de comparer le profil d'expression de deux populations cellulaires.

Knock-out de gènes : l'objectif est de savoir **quel est le rôle d'un gène donné**. On produit un tissu qui n'exprime plus le gène d'intérêt. Si la cellule perd sa forme, par exemple, cela veut dire que le produit d'expression du gène était impliqué dans l'acquisition de la forme de la cellule...

Les inductions commencent au stade blastula. Elles ne sont pas présentes au cours des toutes premières étapes du développement (stade morula). Toutefois, nous allons voir qu'il existe déjà à ces stades des hétérogénéités dans les contenus cytoplasmiques des cellules qui seront plus tard à l'origine de ces inductions.

Nous allons commencer par voir que le **croissant gris**, mis en place suite à la rotation corticale de l'ovocyte fécondé, est responsable de la mise en place d'inductions à l'origine de la **formation du dos de l'embryon**.

II) Importance du croissant gris dans la formation du dos de l'embryon

Comment a-t-on mis en évidence le rôle du CG dans la mise en place du dos de l'embryon ?

1) Les expériences historiques menées sur le croissant gris

* **Expérience historique de Spemann (1903)** : on prend différents types d'embryons au stade 2 cellules. Chez certains, le plan de clivage passe à travers le croissant gris. Chez d'autres, une seule cellule hérite de tout le CG. Pour chaque embryon, on sépare les 2 cellules et on les laisse se développer séparément, comme des vrais jumeaux. => résultats : les embryons n'ayant pas du tout de CG sont anormaux : ce sont juste des amas de tissus ventraux (on parle d'**embryons ventralisés**). Tous les autres embryons sont normaux.

* **Exp de Gimlich et Gerhardt (1985)** : on prend des embryons composés de quelques cellules, que l'on irradie afin de détruire le contenu de leurs croissants gris. Les embryons **irradiés sont ventralisés** par comparaison avec des embryons témoins. Si on prélève une cellule ayant hérité du croissant gris sur un embryon sain et qu'on greffe cette cellule sur un embryon irradié, le **dos est restauré** et l'embryon se développe normalement. De plus, on observe que le dos se développe toujours du côté de la cellule greffée.

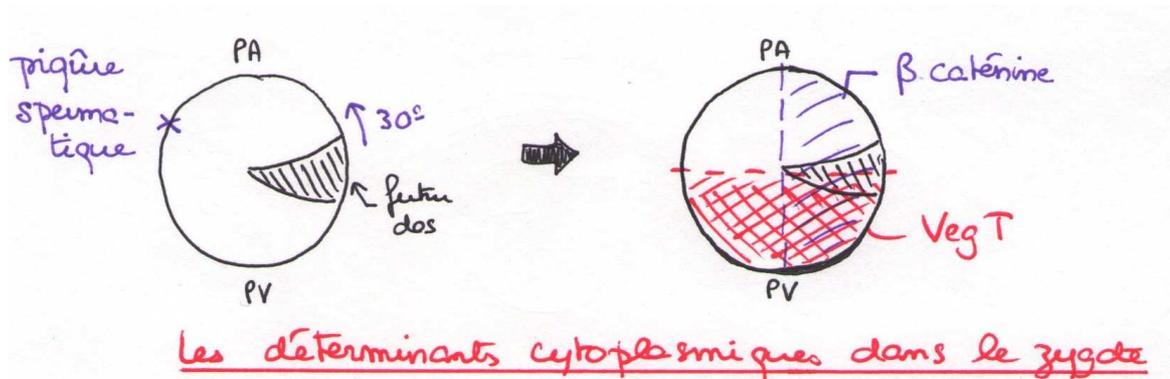
Enfin, si on greffe une cellule de CG sur la face ventrale d'un embryon normal, on voit apparaître des **embryons siamois à 2 dos**.

Ces expériences montrent donc que le croissant gris est responsable de la mise en place du dos de l'embryon. C'est donc le contenu cytoplasmique de l'œuf qui semble être à l'origine de la mise en place de l'axe DV. Comment peut-on l'expliquer ?

2) Explications moléculaires : la redistribution de déterminants cytoplasmiques au niveau du CG

Dans un ovocyte non fécondé, on observe que le pôle végétatif est riche en un ARNm codant une protéine appelée **VegT**. Par ailleurs, la rotation corticale provoque la redistribution d'une protéine DSH qui stabilise une autre protéine, la **β -caténine** (β -cat) au niveau du croissant gris (futur côté dorsal). La partie dorso-végétative du cytoplasme de l'ovocyte est donc à la fois riche en VegT et en β -cat. Ces deux protéines sont des facteurs de transcription pouvant réguler l'expression du génome au cours des étapes ultérieures du développement. Interviennent aussi la protéine Vg1 qui est un messenger paracrine de la famille des TGF β et qui est activée par la rotation corticale et des ARNm redistribués par la rotation corticale comme celui de WNT-11, qui est un autre messenger paracrine permettant aussi le maintien de la **β -caténine dans le croissant gris**.

Toutes les molécules (ARNm, protéines) présentes dans le cytoplasme et susceptibles d'agir dans les communications cellulaires ou bien comme facteurs de transcription sont appelées des **déterminants cytoplasmiques**. Le messenger paracrine Vg1 et les facteurs de transcription β -caténine et VegT sont des déterminants cytoplasmiques fondamentaux. Les cellules qui en hériteront vont être capables d'induire la formation du dos via l'émission de **facteurs paracrines, notamment NODAL, de la famille des TGF β , dont l'expression est activée par ces déterminants cytoplasmiques**.



3) Equivalence des noyaux et non-équivalence des cytoplasmes au stade morula

Les cellules issues des premières divisions cellulaires auront donc des **contenus cytoplasmiques différents**. En revanche, ces cellules ont **toutes les mêmes noyaux**.

Cela a été montré par l'expérience de Spemann : celui-ci a pris un zygote et il a effectué une constriction en son milieu grâce à un cheveu. Le zygote ne se divise que du côté où était le noyau ; les cytoplasmes peuvent s'échanger des molécules. Au stade 16 cellules, il laisse passer un noyau et isole la cellule. Il obtient ainsi 2 embryons viables. **Conclusion** : si on laisse les cytoplasmes se rééquilibrer et communiquer jusqu'au stade 16 cellules, n'importe quel noyau est a priori capable de reconstituer un embryon entier. **Les noyaux sont équivalents** et sont encore **totipotents**, c'est-à-dire qu'ils peuvent encore reformer tout un embryon.

A retenir : Jusqu'au stade 16 cellules, c'est le **contenu cytoplasmique** dont les cellules ont hérité qui est important. A partir de ce stade vont se mettre en place des communications via des sécrétions de **facteurs paracrines**.

Nous allons voir comment les cellules ayant hérité du CG vont participer à l'apparition du mésoderme et à sa dorsalisation.

III) Induction de la formation et de la régionalisation du mésoderme au stade blastula

1) Mise en évidence de l'induction du mésoderme

Expériences de Nieuwkoop (1980):

* exp1. Nieuwkoop prend des embryons au stade blastula ayant soit 64 cellules soit 128.

Il sépare le pôle animal, la zone marginale et le pôle végétatif et regarde ce que devient chaque groupe de cellules.

Au stade 64 cellules, la ZM ne donne pas de tissus mésodermiques, elle donne des structures ectodermiques comme la calotte animale. Le pôle végétatif donne des tissus endodermiques.

Au stade 128 cellules, la ZM donne des tissus mésodermiques.

CCL Entre les stades 64 et 128 cellules, la ZM devient capable de donner du mésoderme.

* exp 2 Nieuwkoop prend des embryons au stade 128 cellules, il injecte un marqueur dans la calotte animale. Puis il sépare la calotte animale, la zone marginale et le pôle végétatif. Il met en contact le pôle végétatif et la calotte animale. A la jonction entre les deux, il voit apparaître des tissus mésodermiques marqués.

CCL Au niveau de la ZM, les cellules du PA sont en contact avec les cellules du PV. **Le PV joue un rôle inducteur sur les cellules du PA** : ce dernier est induit à former du mésoderme. Les cellules du PA situées loin du PV (non induites) donnent des tissus ectodermiques.

Les cellules de la ZM, induites par le PV, donnent du mésoderme. Toutefois, ce ne sont pas les mêmes tissus mésodermiques qui vont être produits à proximité du croissant gris (pôle dorsal) ou à l'opposé (pôle ventral)...

A peine le mésoderme commence-t-il à être induit qu'il est déjà **régionalisé**.

2) Mise en évidence de l'induction de la régionalisation dorso-ventrale du mésoderme

Expérience de Dale et Slack (1987)

Ils prennent une blastula au stade 128 cellules et séparent ses blastomères végétatifs. **Le blastomère 1 est dorso-végétatif, c'est lui qui a hérité du croissant gris (donc de VegT, Vg1 et bêta-cat)**. Le blastomère 4 est ventro-végétatif.

Ils mettent en contact chaque blastomère végétatif avec un morceau de calotte animale.

Résultats : la calotte en contact avec des blastomères dorso-végétatifs 1 donne des tissus mésodermiques dorsaux, comme la corde. La calotte en contact avec des blastomères ventro-végétatifs 4 donne des tissus mésodermiques ventraux, comme du mésenchyme (muscle abdominaux).

CCL Tous les blastomères végétatifs n'ont pas la même activité inductrice vis-à-vis du mésoderme. Plus le blastomère est dorsal, plus in va induire la formation de mésoderme de type dorsal.

Les blastomères dorso-végétatifs ayant hérité de VegT, bêta-cat et Vg1 ont un fort rôle inducteur dans la formation de mésoderme, ils commandent notamment la formation de mésoderme de type dorsal. Ces blastomères sont appelés le **centre de Nieuwkoop**. Quels sont les facteurs paracrines sécrétés par le centre de Nieuwkoop qui permettent la mise en place du mésoderme dorsal ?

3) Identification des facteurs paracrines synthétisés par le centre de Nieuwkoop

L'induction du mésoderme se fait suivant un schéma spatio-temporel précis. Les expériences ont montré qu'un facteur

paracrine diffuse en moyenne sur **80µm** (soit 5-6 cellules), qu'il faut au moins 2h de contact avec la cellule compétente pour qu'un effet apparaisse et **5h** pour que le mésoderme commence réellement à se former.

On peut identifier deux grands groupes de facteurs paracrines :

* le **groupe des TGF** (Transforming Growth Factors), protéines qui jouent un rôle prépondérant dans l'induction du mésoderme. On distingue différents membres à cette famille :

- **activine, Vg1, Nodal ont un effet dorsalisant**

- **BMP-4** (Bone Morphogenesis Factor car il intervient plus tard dans l'ostéogenèse) a un effet **ventralisant**

* le **groupe des FGF** (Fibroblasts Growth Factors), famille de 22 peptides ayant entre 150 et 300 AA, présents de manière universelle chez les animaux. Ils ont essentiellement une **activité ventralisante** au cours de l'induction du mésoderme.

La plupart de ces facteurs paracrines ont une **action dose-dépendante** sur les cellules étudiées : plus leur concentration est élevée, plus l'effet inducteur est fort.

4) Modèle moléculaire de l'induction du mésoderme

a) le centre de Nieuwkoop induit la formation de mésoderme dorsal

Quand le zygote se divise, les blastomères dorso-végétatifs, appelés **centre de Nieuwkoop**, héritent de Vg1 (messager paracrine) et de **VegT et bêta-cat (facteurs de transcription)**. Ils vont modifier l'expression génétique des blastomères DV et leur conférer une fonction inductrice : le **centre de Nieuwkoop** se met à produire des protéines diffusibles **Nodal, activine et Vg1**. Ces 3 facteurs diffusent vers la **zone marginale sus-jacente** et induisent la formation de **mésoderme dorsal**.

Ce mésoderme dorsal exprime, entre autres, le gène **goosecoid** qui code pour un facteur de transcription. Le gène goosecoid active d'autres gènes à effet dorsalisant.

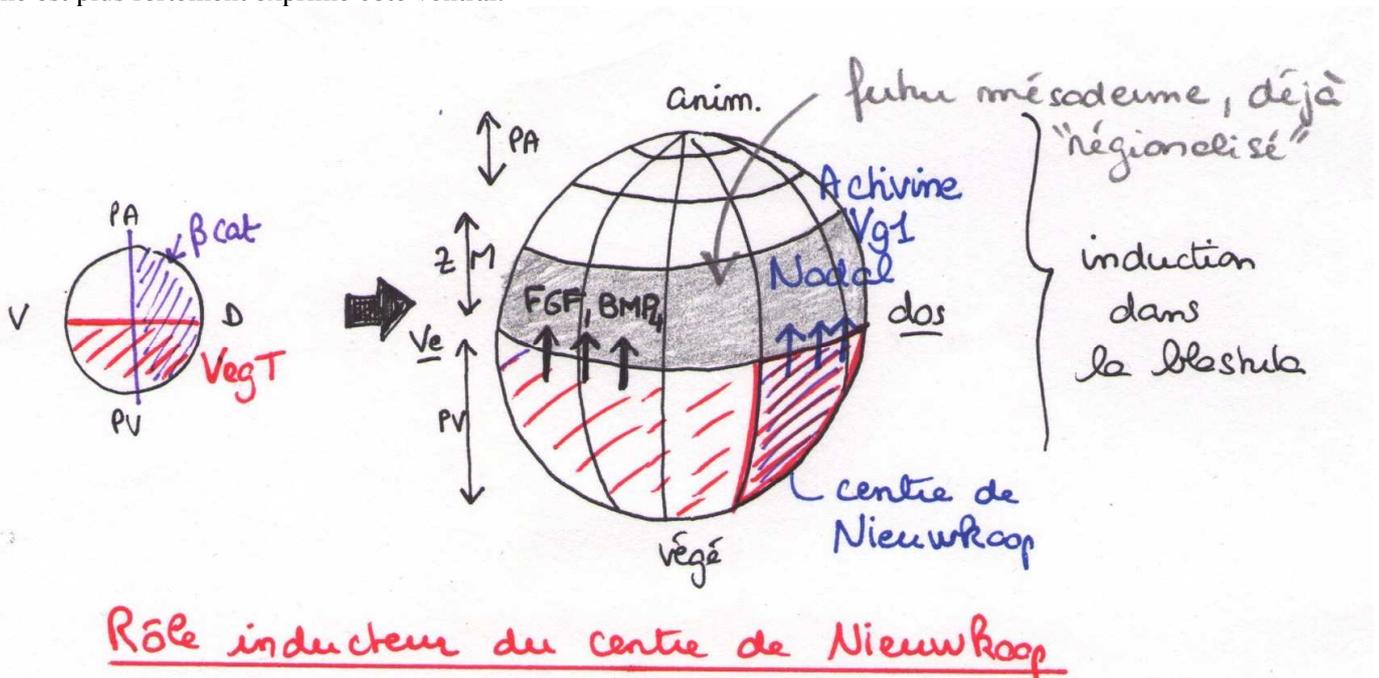
Ce gène goosecoid est un **gène à homéodomaine**, même s'il n'est pas un gène homéotique. La protéine goosecoid possède donc un domaine de 60AA très conservé, l'**homéoboite**, qui présente un domaine **hélice-boucle-hélice** capable de se lier à l'ADN.

b) Les blastomères végétatifs latéraux et ventraux induisent la formation de mésoderme latéral et ventral

Par ailleurs, les **blastomères latéraux et ventraux** de l'hémisphère végétatif sécrètent des facteurs type **FGF et BMP4** qui induisent la formation de **mésoderme latéral et ventral**.

A peine induit, le mésoderme présente déjà un début de régionalisation.

Les cellules du mésoderme qui vient d'être induit expriment le gène **brachyury**, caractéristique du mésoderme. Ce gène est plus fortement exprimé côté ventral.



L'induction de l'expression des gènes goosecoid et brachyury a été montrée par une expérience de mise en contact des cellules de la calotte animale avec les facteurs activine et FGF.

Le mésoderme est maintenant déterminé, il va être positionné au cours de la gastrulation. Au cours de sa mise en place, le mésoderme va sécréter de nombreux facteurs diffusibles qui vont être responsables :

- de sa **régionalisation antéro-postérieure et dorso-ventrale**
- de la **régionalisation des feuillets ectodermiques et endodermiques.**

Le mésoderme joue donc un rôle inducteur majeur au cours du développement.

IV) Induction de la régionalisation des feuillets au stade gastrula

1) La régionalisation dorso-ventrale de l'embryon

a) Mise en évidence du rôle inducteur de la lèvre dorsale du blastopore

L'importance de la lèvre dorsale du blastopore dans la régionalisation dorso-ventrale du mésoderme a été montrée par **l'expérience de Spemann et Mangold** en 1924. Ces scientifiques ont prélevé la lèvre dorsale du blastopore d'un embryon pigmenté (cellules en bouteilles + quelques cellules adjacentes commençant leur invagination). Ils l'ont greffée, en position ventrale, sur un embryon albinos au stade gastrula.

L'embryon résultant avait donc 2 lèvres blastoporales. En se développant, il donne des **siamois** accrochés par le ventre. Ces siamois ont **deux têtes, 2 cordes, 2 dos** mais un abdomen commun. En réalisant des coupes histologiques, ils ont vu que les cellules pigmentées donnaient la **corde** et une petite partie des somites. La plupart des cellules formant l'embryon surnuméraires sont blanches et ne proviennent donc PAS du greffon.

Conclusion : la **lèvre dorsale du blastopore** est capable **d'induire la dorsalisation** de l'embryon. Elle joue un rôle inducteur majeur sur les 3 feuillets cellulaires. Cette lèvre dorsale est à l'origine de la corde de l'embryon ; on l'appellera désormais le **centre organisateur de Spemann**.

b) le centre organisateur de Spemann induit la dorsalisation de l'embryon

Les cellules qui vont donner le centre organisateur de Spemann sont les cellules de la **zone marginale dorsale**, qui expriment le facteur goosecoid. On peut donc dire que **le centre organisateur de Spemann a été induit par le centre de Nieuwkoop**, présent juste en-dessous.

Une partie des cellules du centre de Nieuwkoop, appartenant au futur endoderme, acquièrent une forme « en bouteille » par constriction du réseau d'actine de leur ceinture d'adhérence. Ce sont les 1^o cellules à s'invaginer et à entrer dans l'embryon.

Les cellules du COS, qui rentrent aussi très précocement dans l'embryon, seront ensuite à l'origine de la corde. Ces cellules du COS vont contribuer à la mise en place et à la régionalisation du feuillet médian, le mésoderme.

Le mésoderme est donc en quelque sorte à l'origine de sa propre régionalisation.

c) Un double gradient de facteurs paracrines à l'origine de la régionalisation DV de l'embryon

Au fur et à mesure de leur migration, les cellules du COS sécrètent des facteurs **protéiques Noggin, Chordin et Follistatin**. Ce sont des facteurs dorsalisants.

Par ailleurs, les cellules de la lèvre ventrale sécrètent des facteurs ventralisants nommés **BMP4 et Wnt8**.

Les deux gradients sont donc en sens opposé. Ils vont participer à la régionalisation DV :

- du **mésoderme lui-même** = en position très dorsale, il donne **la corde** puis les **somites**, sur les côtés il donne les **pièces intermédiaires** et en position ventrale, les **lames latérales**

- de **l'ectoderme** : en position dorsale, il donne plutôt le **neuroderme** et en position ventrale, **l'épiderme**.

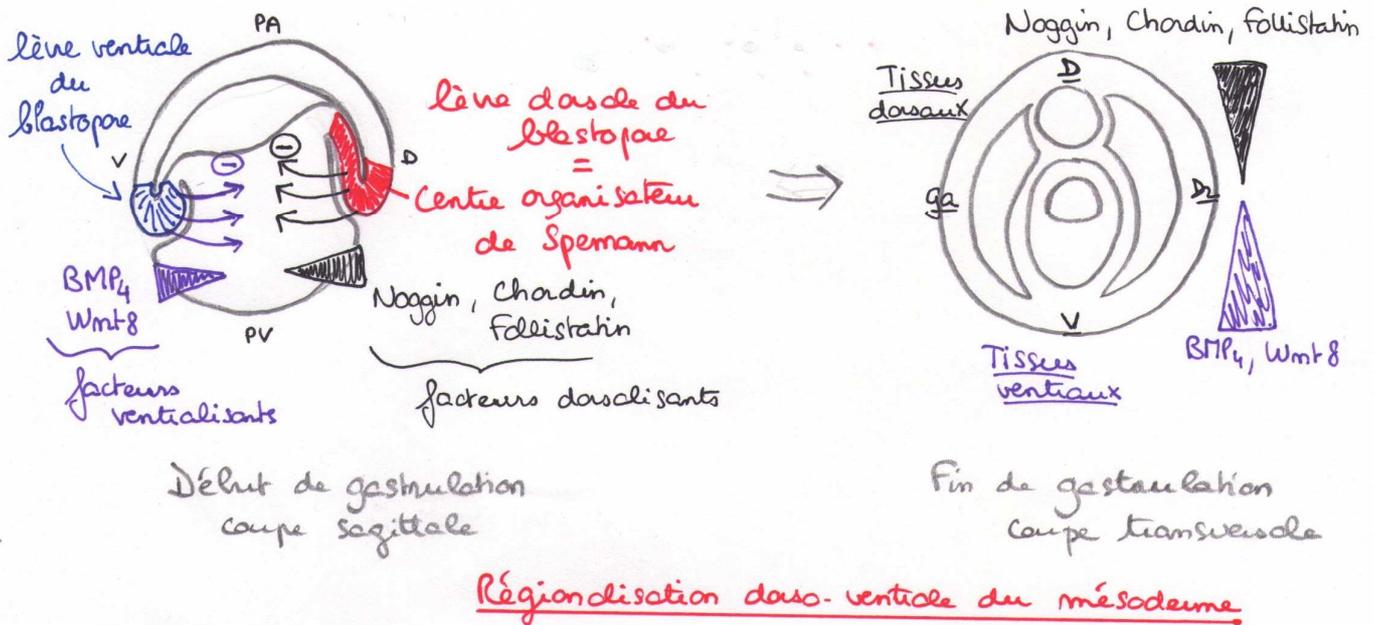
L'influence du futur mésoderme sur la régionalisation de l'ectoderme a été mise en évidence en 1955 par l'expérience de **l'exogastrulation de Holtfreter**. En cultivant un embryon en milieu très salé, il empêche l'invagination de la zone marginale. La calotte animale n'est donc pas en contact avec la ZM et elle donne des tissus de type épidermiques seulement, pas de tissus nerveux. **La mise en place du système nerveux requiert donc une induction de l'ectoderme par le mésoderme.**

On rappelle aussi que dans l'expérience de Nieuwkoop où on séparait PA/ZM/PV, les cellules du PA isolées donnaient seulement de l'épiderme, pas de neuroderme.

- l'endoderme donnant un tube, il n'y a pas vraiment de différence entre le côté dorsal et le côté ventral.

A retenir : le COS sécrète *Noggin, Chordin et Follistatin* qui induisent la formation du système nerveux, de la corde et des somites (dermatome, sclérotome, myotome = muscles du dos) => Dorsalisation
***BMP4 et Wnt8* induisent la formation de l'épiderme, des PI (rein, voies génitales) et des lames latérales (à l'origine des muscles abdominaux, cœur etc.) => Ventralisation.**

La diffusion des facteurs paracrines selon l'axe DV est appelé **signalisation tangentielle**.



Les 3 feuillets doivent aussi se régionaliser suivant l'axe antéro-postérieur : bien sûr, on ne trouve pas les mêmes tissus dans la tête du têtard que dans sa queue ! Voyons comment se fait cette régionalisation.

2) La régionalisation antéro-postérieure de l'embryon

Le mésoderme qui entre en 1^{er} dans l'embryon (mésoderme cordal) a une activité inductrice de la tête. Le mésoderme qui se met en place plus tardivement induit le corps et la queue de l'embryon.

Les cellules qui se sont **invaginées en 1^{er}** sécrètent les facteurs **« cerberus » et « frizbee »** qui vont induire :

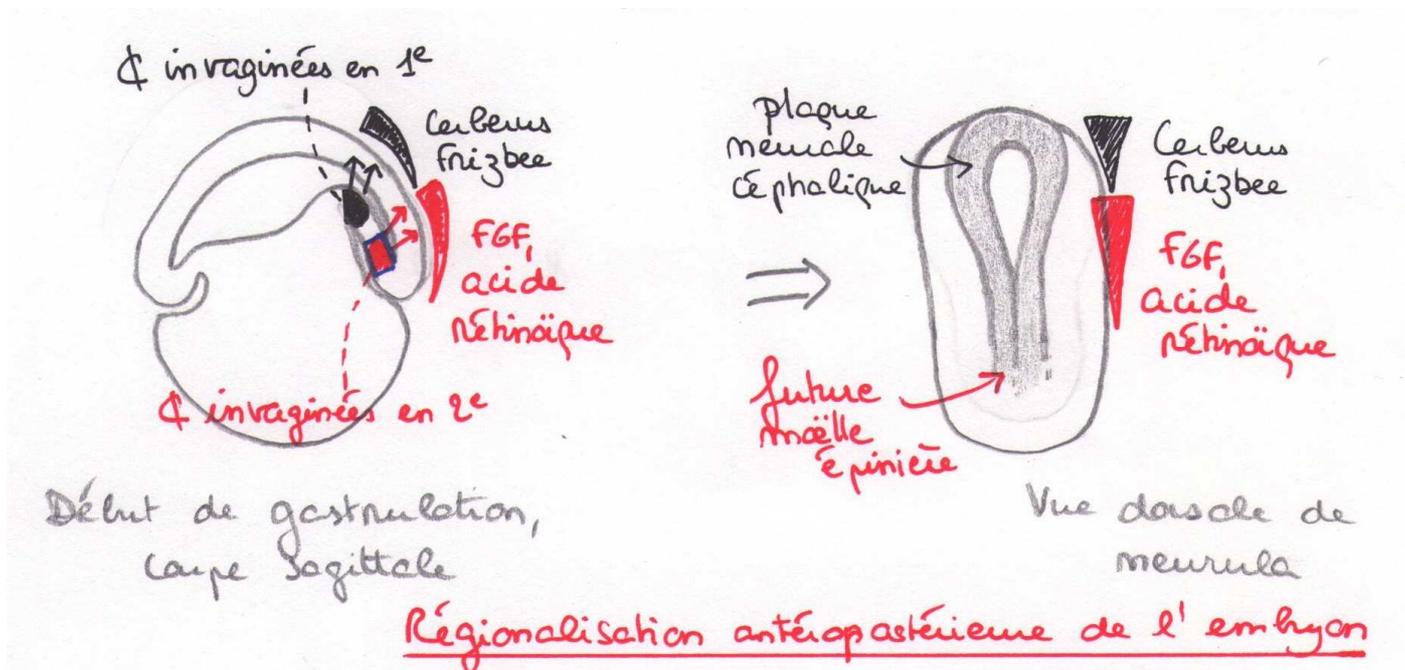
- l'**ectoderme** sus-jacent à former du système nerveux de type « **cerveau** »
- le **mésoderme** lui-même à former du **mésenchyme céphalique**, c'est-à-dire les muscles à l'origine de la tête et de la boîte crânienne
- l'**endoderme** à former de l'**œsophage**.

Les cellules mésodermiques réalisant une involution plus tardive sécrètent les **facteurs FGF et acide rétinolique**.

Ces facteurs sont impliqués dans la régionalisation :

- de l'**ectoderme**, qui va former la **moelle épinière** et les nerfs rachidiens qui y sont reliés
- du **mésoderme**, notamment des **somites**. Suivant leur concentration, ils vont aller activer certains **gènes homéotiques** qui indiqueront aux somites de former des vertèbres cervicales, puis des côtes etc.
- de l'**endoderme**, qui va donner de l'**estomac puis de l'intestin**.

La diffusion des facteurs paracrines suivant l'axe AP constituent la **signalisation verticale**.



3) La régionalisation gauche-droite de l'embryon

Quelques mots sur la régionalisation GD... Au stade gastrula, on a une expression plus importante du gène XNR1 dans le mésoderme gauche. Cela est dû au fait qu'on avait une répartition différentielle de certains déterminants cytoplasmiques au stade cellule-œuf : certains ARNm étaient plus concentrés côté gauche du zygote. Le gène XNR1 va guider la mise en place de l'asymétrie GD de certains organes (cœur, foie).

4) Bilan de la mise en place du plan d'organisation primaire de l'embryon

a) **Importance des inductions cellulaires**

Les trois axes de polarité sont donc prédéterminés au stade zygote, puis ils se mettent en place au stade gastrula grâce à des inductions cellulaires.

Au cours des 1^{er} étapes du développement (**morula**), c'est le **contenu cytoplasmique** de la cellule qui importe et ce contenu est dû au fait que certains molécules étaient réparties de manière hétérogène dans le zygote.

Au cours des étapes **blastula et gastrula**, le devenir des cellules est guidé par des communications cellulaires, notamment par des **inductions**. Chaque cellule reçoit une **combinatoire (cocktail) de facteurs paracrines** qui lui donne une **information de position**. La plupart de ces facteurs paracrines sont sécrétés par le mésoderme. Une cellule qui reçoit une combinatoire particulière de signaux diffusibles va être **déterminée**, c'est à dire qu'elle va activer, côté intracellulaire, une certaine **combinatoire de facteurs de transcription**.

La cellule déterminée va ensuite s'engager dans une voie de **différenciation** particulière.

b) **Déterminisme versus plasticité des cellules**

Attention, on ne connaît pas tous les facteurs paracrines ni tous les facteurs de transcription impliqués. Ce qui a été présenté ici n'est qu'un modèle, qui ne représente pas l'intégralité des processus cellulaires mais seulement une partie des connaissances, que l'on a simplifiées pour en faire des schémas cohérents et lisibles.

Eviter le déterminisme : « telle cellule va recevoir ceci et cela et donc obligatoirement donner cela... » = au stade blastula, les cellules se ressemblent beaucoup et il y a une **grande plasticité**, c'est-à-dire qu'une cellule donnée peut donner à peu près n'importe quoi. On observe surtout des **tendances** = tel groupe de cellule a tendance à donner plutôt tel ou tel type de tissu...

C'est la mise en place des communications cellulaires qui va permettre un développement harmonieux de l'embryon. Les communications sont si précises qu'elles guident le développement suivant un **schéma précis** et presque invariant au sein d'une même espèce.

Au cours du développement, les propriétés de l'organisme dans son ensemble sont plus grandes que la somme des

propriétés de toutes les cellules. On parle de **propriétés émergentes ou holistiques**.

V) Régionalisation de l'embryon au stade organogénèse : ex des somites

1) Formation des somites

Les somites proviennent du mésoderme dorsal de l'embryon. Elles se mettent en place de **l'avant vers l'arrière** : les somites du **PA** apparaissent en 1^{er}, chacun met **1h** à se former. Les somites du **PV** apparaissent en dernier et mettent environ **3h** chacun pour se former.

C'est à leur niveau que la régionalisation antéro-postérieure de l'embryon sera la plus visible puisque chez les mammifères et oiseaux, les somites donnent :

- les **différentes vertèbres : cervicales, thoraciques, lombaires, sacrées et caudales**
- les **membres antérieurs et postérieurs**.

On rappelle que chez la grenouille, les membres se mettent en place lors de la métamorphose à partir de la somatopleure.

Suivant les espèces, **40 à 70 somites** apparaissent. La somitogénèse a lieu chez tous les vertébrés.

Nous venons de dire que les somites ne donnaient pas les mêmes vertèbres tout au long de l'axe AP. Comment s'effectue cette différenciation ?

2) Régionalisation des somites selon l'axe antéro-postérieur

a- **Mise en évidence d'une détermination précoce des somites**

* Si on prend des somites de thorax d'un embryon de poulet et qu'on les greffe dans le cou d'un autre => ces somites se développent en donnant des côtes.

* Si on retourne un morceau de mésoderme présomitique sur un embryon, le morceau retourné donnera des somites conformément à sa position d'origine.

=> La différenciation AP des somites est donc déterminée précocement et ne change pas en réponse à un nouvel environnement.

En revanche, si on retourne un somite dorso-ventralement, le têtard obtenu sera normal : la régionalisation DV est déterminée plus tardivement ou bien est plus plastique.

b- **Influence des gènes homéotiques sur la régionalisation des somites**

L'identité de position des somites le long de l'axe AP est déterminée par des **gènes maîtres du développement** appelés **gènes homéotiques**.

Les gènes homéotiques ont été découverts en étudiant des mutations chez la drosophile : les **mutants antennapedia** (pattes à la place des antennes) et **ultrabithorax** (2 paires d'ailes, la 2^e paire remplaçant les balanciers).

Ce sont donc des mutations au cours desquelles des segments entiers de corps sont touchés. On a fait l'hypothèse que le développement était guidé par un petit nombre de **gènes architectes** qui réguleraient d'autres groupes de gènes.

Ces gènes sont désormais connus. Ils présentent de fortes homologies de séquences : ils ont une région de **180 nucléotides** très conservée, codant un domaine protéique de 60 AA de type hélice-tour-hélice : l'**homéoboite** capable de se lier à l'ADN. Les protéines codées par ces gènes homéotiques sont des **facteurs de transcription** fondamentaux.

Parfois, les gènes homéotiques sont appelés gènes **Hox**.

Depuis, on a trouvé des gènes à homéoboite qui ne sont pas des gènes homéotiques (ce sont juste d'autres gènes importants du développement). Tous les gènes homéotiques sont à homéoboite, mais la réciproque n'est pas vraie.

En 1983, de Robertis a l'idée de chercher chez le xénope des gènes similaires aux gènes homéotiques de drosophile. Il scanne donc le génome du xénope avec des sondes ADN complémentaires des gènes homéotiques... et trouve ! On sait maintenant que les gènes homéotiques sont présents chez quasiment **tous les métazoaires**, de la drosophile à l'homme et se ressemblent beaucoup d'une espèce à l'autre (**gènes orthologues**).

Les gènes homéotiques de la drosophile sont tous les uns à la file des autres sur le même chromosome.

Fait très curieux, **ils s'expriment, chez l'animal, de l'avant vers l'arrière exactement dans le même ordre que leur position sur le chromosome**. Les gènes en 3' s'expriment à l'avant de l'animal (tête) et les gènes en 5', à

l'arrière (queue). On parle de **colinéarité spatiale**.

Chaque somite exprime une **combinatoire** de gènes homéotiques. Les profils d'expression des gènes sont bien définis vers l'avant mais s'estompent graduellement vers l'arrière. La **limite antérieure** d'expression d'un gène détermine la production d'une nouvelle structure.

Connaissant ces propriétés, on peut expliquer l'origine des mutations ANT et UBX. Exemple avec Ubx :

Quand on a une délétion d'un gène homéotique, des structures antérieures progressent vers l'arrière (ubx).
Quand un gène homéotique s'exprime trop tôt, des structures postérieures apparaissent à l'avant (ant).

En plus de cette colinéarité spatiale, on a aussi une **colinéarité temporelle** : les gènes sont exprimés de **manière séquentielle de l'avant vers l'arrière**, aussi les structures antérieures se différencient-elles avant les postérieures. Cela est cohérent avec le fait que les somites antérieurs se forment avant les postérieurs.

Il y a donc **colinéarité spatio-temporelle** : les gènes les plus en amont sur le chromosome s'expriment à la fois plus tôt et dans des régions plus antérieures de l'organisme. On retrouve la même chose chez les vertébrés. Cette expression séquentielle des gènes donne aux cellules une identité de position suivant l'axe antéro-postérieur.

c- Origine de l'expression séquentielle des gènes homéotiques

Pourquoi les gènes homéotiques présentent-ils ce profil d'expression si particulier ?

Cela serait dû à des gradients de facteurs diffusibles présents dans l'embryon au stade gastrula. Les explications ne sont pas les mêmes suivant l'espèce considérée, nous allons nous intéresser au xénope.

Nous avons vu au cours du chapitre précédent que le mésoderme, lors de son involution, synthétisait un **gradient d'acide rétinoïque** le long de l'axe AP (signalisation verticale). Il semble que ce soit ce gradient qui soit à l'origine de l'expression séquentielle des gènes :

- **quand la concentration en acide rétinoïque est forte, on active les gènes en 3', antérieurs**
- **quand la concentration en acide rétinoïque est forte, on active les gènes en 5', postérieurs.**

Ceci a pu être mis en évidence expérimentalement : si on ajoute de l'acide rétinoïque à des embryons de têtards, on a des sujets mutés avec des structures antérieures qui gagnent vers le pôle postérieur.

A retenir : Les somites sont des groupes de cellules d'origine mésodermique qui s'organisent le long de l'axe AP, en commençant par l'avant. Leur différenciation AP est sous contrôle de quelques gènes spécifiques appelés gènes homéotiques qui codent pour des facteurs de transcription. L'expression des gènes homéotiques est colinéaire dans l'espace et dans le temps avec leur ordre d'expression dans l'embryon. Leur combinatoire donne aux cellules une identité de position.

Qu'en est-il de la régionalisation dorso-ventrale ?

3) Régionalisation des somites selon l'axe dorsoventral

On rappelle que si l'on retourne un somite selon l'axe DV, il se développe normalement. Leur déterminisme est donc plus tardif ou plus plastique.

Le somite va donner 3 types de tissus : sclérotome, dermatome, myotome. Comment savoir quelle partie du somite va donner quoi (= établir la carte des territoires présomptifs) ?

On introduit dans des somites de poulet quelques cellules de caille provenant de la même position. Les cellules de caille et de poulet se reconnaissent sans problème mais les cellules de cailles sont colorées différemment, ce qui permettra de suivre leur devenir. Cette méthode est appelée « **chimère caille-poulet** ».

Qui contrôle la différenciation des somites ? Des expériences ont été réalisées...

- si on retire le TN et la corde : les somites se nécrosent
- si on greffe une corde supplémentaire au-dessus du somite, il ne donne presque que du sclérotome.

La corde induirait donc la formation de sclérotome à partir de cellules de somites.

Un modèle d'induction de la régionalisation DV des somites chez les mammifères a été proposé.

Des **signaux paracrines** activent des gènes maitres du développement appelés **Pax3 et Pax1**.

Les cellules du sclérotome donnent d'abord du cartilage puis de l'os.

Conclusion :

Le devenir des cellules au cours du développement embryonnaire est contrôlée dans l'espace et dans le temps par des échanges d'informations reposant sur des communications inter et intracellulaires.

Des cascades d'induction spécifient et modulent progressivement la différenciation de cellules et des territoires compétents, modifient les caractéristiques de leurs réponses à d'autres signaux et spécifient de proche en proche leur devenir. In fine, ces systèmes d'information interagissent avec des réseaux de gènes, conservés dans l'évolution, comme les gènes homéotiques. Ces gènes codent des facteurs de transcription qui modulent l'expression de très nombreux autres gènes et orchestrent ainsi le développement embryonnaire.

Dans les grandes lignes, ces modèles d'interaction se retrouvent, non seulement chez tous les animaux, mais aussi chez les plantes.