



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (USTO-MB)
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département de Génétique Moléculaire Appliquée

**Polycopié de la matière : Génétique de développement et
différenciation cellulaire**

Destiné aux étudiants en première année de Master (M1)

**Académique en Génétique Fondamentale et Appliquée
(GFA)**

Présenté par : **Dr OUHAIBI hadjira ouhaibi**
Maitre de conférences B

Année Universitaire : 2023-2024

Avant-propos

La matière Génétique de développement et la différenciation cellulaire permettra aux étudiants de maîtriser les gènes qui interviennent dans les premiers stades de développement embryonnaires, ceux responsables de la segmentation et la différenciation cellulaire avec la maîtrise de la signalisation cellulaire activée lors de l'engagement dans une voie de différenciation. Notamment ceux responsables de la mise en place des principaux axes embryonnaires : l'axe antéro-postérieur (A/P) et l'axe dorso-ventral (D/V), ainsi que ceux qui dirigent la segmentation et la différenciation cellulaire avec la maîtrise de la signalisation cellulaire activée lors de l'engagement dans une voie de différenciation. Ce module est une application des connaissances acquises lors de la dernière année de licence (3^{ème} année), notamment la régulation génique dans tous ses états (chromatinienne, transcriptionnelle et traductionnelle). Cette matière nécessite la maîtrise de certaines connaissances préalables principalement les notions acquises en biologie animale pour connaître les cycles de développement étudiés, la génétique moléculaire et la régulation des gènes.

Ce module comprend deux grands volets, le premier porte sur la différenciation et prolifération cellulaire et certaines notions sur les cellules souches, et le second volet porte sur les gènes du développement chez la drosophile comme modèle et leurs homologues chez les vertébrés.

Résumé

Au cours du développement embryonnaire, le destin des cellules est déterminé par les informations de position qu'elles possèdent. La différenciation cellulaire déclenche souvent des changements dans l'organisation de l'embryon, qui créent à leur tour de nouvelles informations de position. Ces cycles de morphogenèse et de différenciation sont des processus essentiels à la bonne organisation de l'embryon. L'objectif principal de ce polycopé est de familiariser les étudiants avec les mécanismes anatomiques, embryologiques, moléculaires, biochimiques et physiologiques qui assurent le développement de l'embryon et la différenciation cellulaire après la fécondation de l'œuf ou du zygote, dans le but de former un organisme complet et fonctionnel. Dans ce cours, les développements récents en biologie moléculaire et leurs implications dans l'étude de la biologie du développement seront également abordés. En outre, des concepts de base seront discutés concernant les biotechnologies telles que le clonage et la génération d'organismes transgéniques. Ce manuscrit est divisé en cinq chapitres : le premier chapitre couvre le concept de différenciation cellulaire et les principales données concernant les cellules souches. Le deuxième chapitre traite des gènes du développement et des terminologies utilisées dans ce cours. Le troisième chapitre se concentre sur les gènes impliqués dans l'établissement des axes embryonnaires. Ensuite, le quatrième chapitre aborde les gènes de segmentation et enfin, le dernier chapitre traite des gènes homéotiques chez la drosophile. Ce polycopié se termine par des références bibliographiques.

Mots clés : Gènes de développement, cellules souches, axes embryonnaires et gènes homéotiques

Abréviations

| | |
|-------------|--|
| A/P | Antéro Postérieur |
| AbdA | Abdominal A |
| AbdB | Abdominal B |
| ADN | Acide DésoxyriboNucléique |
| ADNc | Acide DésoxyriboNucléique Complémentaire |
| Antp | Antennapedia |
| ARN | Acide RiboNucléique |
| ARNm | Acide RiboNucléique messenger |
| bcd | Bicoid gene |
| C.S | Cellule Souche |
| cad | Caudal |
| D/V | Dorso Ventral |
| Dfd | Deformed |
| E.S | Embryonic Stem Cell |
| EGC | Embryonic Germ Cell |
| EGF | Embryonic Growth Factor |
| En | Engrailed |
| eve | Even skipped |
| FGF | Fasting Growth Factor |
| ftz | Fushi Tarazu |
| gt | Giant |
| HB | Hunchback |
| hh | HedgeHog |
| HLH | Helix Loop Helix |
| hox | gènes homéotiques |
| Kni | Knirps |
| Kr | Krüppel |
| Lab | Labial |
| MHC | Myosine Heavy Chain |
| nos | Nanos |
| opa | Odd Paired |
| P.S | Parasegment |
| Pb | Proboscidea |
| PH | Potentiel Hydrogène |
| Scr | Sex Combs Reduced |
| SD | Semaine de Développement |
| Tll | Tailless |
| ubx | Ultrabithorax |
| wg | Wingless |

Listes des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Différenciation cellulaire | 3 |
| Figure 2 : Exemples de graphes d'interaction | 5 |
| Figure 3 : Caractéristiques d'une cellule souche | 8 |
| Figure 4 : division de cellules souches | 9 |
| Figure 5 : Stades de différenciation des cellules souches | 10 |
| Figure 6 : Localisation des cellules souches embryonnaires..... | 11 |
| Figure 7 : Cellules souches hématopoïétiques..... | 12 |
| Figure 8 : Cellules souches unipotentes | 13 |
| Figure 9 : Blastocyte embryonnaire source de cellules souches embryonnaires..... | 14 |
| Figure 10 : Localisation des cellules souches adultes | 16 |
| Figure 11 : Notion de clone et création de sous clone..... | 18 |
| Figure 12 : Micro-injection de traceur de lignage cellulaire dans les cellules au stade de la jeune gastrula..... | 19 |
| Figure 13 : les différents types de spécification | 20 |
| Figure 14 : Différenciation cellulaire | 21 |
| Figure 15 : Modélisation des somites et formation des myotomes | 23 |
| Figure 16 : Différenciation et détermination des cellules souches mésenchymateuses | 25 |
| Figure 17 : Structure du myoblaste et les myotubes..... | 25 |
| Figure 18 : Formation du muscle squelettique | 26 |
| Figure 19 : Les signaux de la détermination et différenciation musculaire..... | 26 |
| Figure 20 : Les événements génétiques et cytologiques au cours de la formation des fibres musculaires..... | 27 |
| Figure 21 : Aperçu schématique de la dialectique entre les MRF et la régulation du cycle cellulaire | 28 |
| Figure 22 : Réponse des cellules aux signaux extracellulaires..... | 29 |
| Figure 23 : Lignage cellulaire | 31 |
| Figure 24 : carte des territoires présomptifs chez l'amphibien | 32 |
| Figure 25 : Drosophila melanogaster couple adulte | 34 |
| Figure 26 : cycle de reproduction de drosophile | 35 |
| Figure 27 : Structure d'un œuf de drosophile..... | 36 |
| Figure 28 : Cycle de reproduction de la Drosophile..... | 37 |
| Figure 29 : Clivage et cellularisation, formation du blastoderme cellulaire | 38 |
| Figure 30 : Mouvement de gastrulation | 39 |
| Figure 31 : Etapes de formation de bandelette germinative chez drosophile..... | 40 |
| Figure 32 : La métamorphose chez la drosophile..... | 41 |
| Figure 33 : Structure secondaire de l'extrémité 3' UTR de l'ARNm bicoid..... | 43 |
| Figure 34 : Expérience d'injection du cytoplasme antérieur dans un mutant en gène bicoid.. | 44 |

| | |
|--|----|
| Figure 35: Localisation de la protéine Bicoid chez la drosophile | 44 |
| Figure 36: Rôle de la protéine Bicoid | 45 |
| Figure 37: Formation du pole postérieur chez laa drosophile | 46 |
| Figure 38: Localisation de l'ARNm nanos..... | 47 |
| Figure 39: Distribution des ARNm et protéine Nanos et Hunchback | 47 |
| Figure 40: Régulation de la traduction de l'ARNm hunchback par la protéine nanos | 48 |
| Figure 41: Distribution de l'ARNm et protéine Caudal dans un embryon de Drosophile | 49 |
| Figure 42: Les principaux déterminants maternels de la polarité antéropostérieure chez la drosophile | 50 |
| Figure 43: Formation des structures terminales | 51 |
| Figure 44: Ovogenèse de la drosophile | 52 |
| Figure 45: Localisation des ARNm maternel chez la drosophile..... | 53 |
| Figure 46: Mise en place de l'axe dorso-ventral..... | 54 |
| Figure 47: Signal de développement ventral de drosophile | 55 |
| Figure 48: Expression de la protéine Dorsal chez la drosophile | 56 |
| Figure 49: Formation des feuillets embryonnaires chez la drosophile..... | 57 |
| Figure 50: Régulation d'expression de la protéine Dorsal | 58 |
| Figure 51: Rôle de la protéine Dorsal dans la formation des feuillets embryonnaires..... | 59 |
| Figure 52: Expression des gènes de segmentation de drosophile..... | 60 |
| Figure 53: Domaine d'expression des gènes Gap..... | 62 |
| Figure 54: Régulation des gènes gap..... | 63 |
| Figure 55: Régulation de l'expression du gène Krüppel..... | 65 |
| Figure 56: Gènes gap..... | 66 |
| Figure 57: Expression des gènes pair-rules | 67 |
| Figure 58: Expression progressive du gène even skipped..... | 68 |
| Figure 59: Patron d'expression de la deuxième bande du gène even-skipped | 69 |
| Figure 60: Séquence régulatrice de la 2ème bande du gène even-kipped..... | 70 |
| Figure 61: Un changement du nombre de noyaux ne perturbe pas la spécificité du patron d'expression du gène pair-rule fushi-tarazu | 71 |
| Figure 62: Expression des gènes de polarité segmentaire chez la drosophile | 71 |
| Figure 63: Les mutants de polarité des segments..... | 72 |
| Figure 64: Régulation de l'expression de engrailed | 74 |
| Figure 65: La pousse des denticules est réprimée par Wingless | 75 |
| Figure 66: Régulation de l'expression des gènes de polarité segmentaires | 76 |
| Figure 67: Spécification de la polarité des segments/parasegments par Engrailed et la signalisation Hedgehog et Wingless..... | 77 |
| Figure 68: Régulation paracrine qui maintient les frontières d'expression des gènes engrailed et wingless | 78 |
| Figure 69: Voie de signalisation hedgehog et wingless chez la drosophile | 79 |
| Figure 70: Mutation antennapedia chez la drosophile..... | 80 |
| Figure 71: Mutation ultrabithorax chez la drosophile | 80 |

| | |
|--|----|
| Figure 72: Gènes hox de drosophile..... | 81 |
| Figure 73: Structure 3D de la séquence homéodomaine | 82 |
| Figure 74: Représentation des domaines d'expression des homéogènes du complexe hox... | 84 |
| Figure 75: Structure du complexe Antennapedia de drosophile | 84 |
| Figure 76: Régulation de l'expression du gène antennapedia..... | 85 |
| Figure 77: Régulation du gène ultrabithorax drosophile..... | 86 |
| Figure 78: Règle de colinéarité chez la drosophile | 87 |
| Figure 79: Notion de combinatoire génique..... | 88 |
| Figure 80: Colinéarité de l'arrangement des gènes homéotiques sur le chromosome et de leur expression le long de l'axe antéro-postérieur du corps chez la drosophile et l'embryon de souris | 89 |
| Figure 81 : Carte de répartition des gènes régulateurs homéotiques de la drosophile et d'un vertébré..... | 90 |
| Figure 82: Représentation des domaines d'expression des homéogènes du complexe HOM de la drosophile, et de HOXB de la souris. | 91 |
| Figure 83: Représentation schématique des vertébrés le long de l'axe antéro-postérieur chez la souris et le poulet et limites antérieures d'expression de certains gènes Hox | 92 |

Liste des tableaux

Tableau 1 : Types de cellules souches, plasticité et origine..... 10

Table des matières

| | |
|--|----|
| Avant-propos | 2 |
| Résumé..... | 3 |
| Listes des figures | 5 |
| Liste des tableaux..... | 8 |
| Table des matières | 9 |
| Contenu de la matière selon canevas après harmonisation..... | 14 |
| 1-Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre I : Différenciation cellulaire | 3 |
| 1.Généralités et définitions | 3 |
| 2.Différenciation et morphogènes | 3 |
| 2.1.Au niveau de l'organisme entier | 4 |
| 2.1.1.Au stade du zygote | 4 |
| 2.1.2.Aux stades précoces : segmentation et gastrulation | 4 |
| 2.2. Différenciation au niveau d'un organe (organogenèse)..... | 4 |
| 2.2.1.Au niveau génétique | 5 |
| 2.2.2.Niveau protéique et moléculaire..... | 6 |
| 2.2.3.Niveau macromoléculaire..... | 6 |
| 2.2.4.Niveau cellulaire..... | 6 |
| 2.2.5.Niveau tissulaire | 6 |
| 3.Prolifération cellules souches et lignage cellulaire..... | 7 |
| 3.1Cellules souches | 7 |
| 3.1.1Auto-renouvellement..... | 9 |
| 3.1.2Potentiel de différenciation..... | 9 |
| 3.2Cellules totipotentes | 10 |
| 3.3Cellules pluripotentes..... | 11 |
| 3.4Cellules multipotentes | 11 |
| 3.5Cellules unipotentes | 12 |
| 4. Différents types de cellules souches | 13 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.1 | Cellules souches embryonnaires (ES)..... | 14 |
| 4.2 | Les cellules souches fœtales :..... | 14 |
| 4.2.1 | Cellules somatiques fœtales : | 15 |
| 4.2.2 | Cellules fœtales germinales :..... | 15 |
| 4.3 | Cellules souches adultes :..... | 15 |
| 4.4 | Intérêt thérapeutique des cellules souches : | 16 |
| 4.4.1 | Cellules sanguines..... | 16 |
| 4.4.2 | Peau..... | 17 |
| 4.4.3 | Os | 17 |
| 4.4.4 | Cerveau | 17 |
| 4.4.5 | Cellules musculaires | 17 |
| 4.4.6 | Pancréas | 17 |
| 4.4.7 | Œil..... | 17 |
| 5. | Clones et lignage cellulaire..... | 18 |
| 5.1 | Lignage cellulaire..... | 18 |
| 6. | Spécification et détermination | 19 |
| 6.1 | Spécification..... | 19 |
| 6.2 | Détermination..... | 19 |
| 7. | Différentiation..... | 20 |
| 7.1 | Caractéristiques de la différenciation..... | 21 |
| 7.2 | Gènes de contrôle de la détermination et de la différenciation..... | 21 |
| 8. | Mécanismes moléculaires de la détermination et de la différenciation..... | 21 |
| 8.1 | Prolifération différenciation et cycle cellulaire..... | 21 |
| 8.2 | Différents types de signalisations inter-cellulaires..... | 22 |
| 8.2.1 | Induction par un système ligand – récepteur : | 22 |
| 9. | Différenciation du tissu musculaire | 22 |
| 9.1 | Origine des cellules musculaire..... | 22 |
| 9.2 | Détermination des cellules musculaires | 23 |
| 9.3 | Origine des muscles du corps..... | 24 |
| 9.4 | Histogenèse musculaire..... | 25 |
| 10. | Contacts directs entre cellules d'un même type : | 29 |
| 11. | Interactions entre cellules de différents feuillet primitifs..... | 30 |

| | |
|---|----|
| Chapitre II : Hiérarchie et organisation des phénomènes de différenciation..... | 3 |
| 1. Définition et concepts de la biologie du développement..... | 31 |
| 1.1 Lignage cellulaire :..... | 31 |
| 1.2 Territoire..... | 31 |
| 1.3 Carte de territoires présomptifs..... | 31 |
| 1.4 Champ morphogénétique..... | 32 |
| 1.5 Engagement et détermination..... | 32 |
| 1.6 Contrôle génétique maternel ou zygotique :..... | 32 |
| 1.7 Spécification :..... | 32 |
| 1.8 Gène de développement..... | 32 |
| 1.9 Les principales décisions lors de la construction de l'embryon..... | 33 |
| 2. Drosophile : organisme modèle..... | 33 |
| 2.1 Taxinomie de la drosophile..... | 34 |
| 2.2 Cycle de reproduction de drosophile..... | 34 |
| 2.2.1 Fécondation et ponte :..... | 35 |
| 3. Fondement de génétique de développement..... | 36 |
| 4. Cycle de développement de drosophile..... | 37 |
| 4.1 Blastoderme cellulaire :..... | 37 |
| 4.2 Gastrulation..... | 38 |
| 4.3 Bandelette germinative..... | 39 |
| 4.4 De la larve à l'adulte : la métamorphose..... | 41 |
| 4.5 Segmentation..... | 42 |
| Chapitre III : Etablissement des axes embryonnaires..... | 31 |
| 1. Mise en place des polarités de l'embryon..... | 42 |
| 2. Etablissement de l'axe antéro-postérieur..... | 42 |
| 2.1 Etablissement du pôle antérieur..... | 42 |
| 2.1.1 Localisation de l'ARNm de <i>bicoid</i> | 43 |
| 2.1.2 Localisation de la protéine Bicoid..... | 44 |
| 2.1.3 Fonction de la protéine Bicoid..... | 44 |
| 2.2 Etablissement du pôle postérieur..... | 45 |
| 2.2.1 Localisation de l'ARNm de <i>nanos</i> | 46 |
| 2.2.2 Localisation de la protéine Nanos..... | 47 |

| | |
|--|----|
| 2.2.3 Rôle de la protéine Nanos..... | 47 |
| 2.2.4 Protéine Caudal (cad) | 48 |
| 2.3 Les principaux déterminants maternels de la polarité antéropostérieure chez la drosophile..... | 49 |
| 3. Groupe de gènes terminaux | 50 |
| 4. Etablissement de l'axe dorso-ventral | 51 |
| 4.1 Mise en place du réseau de microtubules..... | 52 |
| 4.2 Transport et localisation des informations | 53 |
| 4.3 Migration du noyau de l'ovocyte | 53 |
| 4.4 Mise en place de l'axe dorso-ventral..... | 54 |
| 4.4.1 Signal ventralisant..... | 54 |
| 4.4.2 Rôle de la protéine Dorsal..... | 56 |
| 4.4.3 Mécanismes d'action différentielle de Dorsal | 57 |
| 4.4.4 Autres mécanismes | 59 |
| Chapitre IV : Gènes de segmentation | 60 |
| 1. Introduction..... | 60 |
| 2. Hiérarchie des phénotypes de segmentation | 61 |
| 3. Gènes GAP | 61 |
| 3.1 Différents types de gènes <i>gap</i> | 62 |
| 3.2 Régulation des gènes <i>gap</i> | 62 |
| 3.3 Expression de <i>hunchback</i> | 63 |
| 3.4 Expression de <i>Krüppel</i> | 64 |
| 3.5 Expression de <i>Knirps et Giant</i> | 65 |
| 3.6 Expression de <i>tailless et huckebein</i> | 66 |
| 4. Gènes Paire Rules | 66 |
| 4.1 Différents types de gènes <i>pair-rules</i> | 67 |
| 4.2 Expression des gènes <i>pair-rules</i> primaires..... | 68 |
| 4.2.1 Régulation de l'expression du gène <i>even-skipped (eve)</i> | 69 |
| 4.3 Expression des gènes <i>pair-rule</i> secondaires..... | 70 |
| 4.3.1 Expression des gènes <i>fushi-tarazu</i> | 70 |
| 5. Gènes de polarité segmentaires..... | 71 |
| 5.1 Différents types des gènes de polarité segmentaire | 73 |

| | |
|--|-----|
| 5.2 Expression du gène <i>engrailed</i> (en)..... | 73 |
| 5.3 Expression du gènes <i>wingless</i> | 74 |
| 5.4 Compartimentation..... | 75 |
| 5.5 Signalisation par les voies <i>hedgehog</i> et <i>wingless</i> | 76 |
| Chapitre V : Gènes homéotiques | 80 |
| 1. Gènes homéotiques chez la drosophile | 80 |
| 1.1 Cartographie des gènes sélecteurs homéotiques | 81 |
| 1.2 Structure des gènes homéotiques | 82 |
| 1.3 Expression des gènes homéotiques | 83 |
| 1.4 Complexe <i>antennapedia</i> | 84 |
| 1.6 Complexe <i>bithorax</i> | 86 |
| 1.7 Caractéristiques des gènes homéotiques | 87 |
| 1.7.1 Règle de colinéarité | 87 |
| 1.7.2 Règle de Lewis | 88 |
| 1.7.3 Notion de combinatoire génique..... | 88 |
| 2. Gènes homéotiques chez les vertébrés..... | 88 |
| 3. Conservation des gènes homéotiques au cours de l'évolution | 92 |
| Références bibliographiques..... | 93 |
| Liens internet | 104 |

Contenu de la matière selon canevas après harmonisation

Ce module est destiné aux étudiants en première année master (master1), spécialité : Génétique Fondamentale et Appliquée (GFA). Ce module est une unité fondamentale (UF) avec un coefficient de 3 et 6 crédits.

Chapitre 1 : Différenciation cellulaire

1- Définitions

2- Différenciation et morphogènes

3- Prolifération, cellules souches et lignage cellulaire

3.1- Cellules souches

3.2- Clones et lignage cellulaire

4- Spécification et détermination

4.1- Spécification

4.2- Détermination

5- Différenciation

5.1- Caractéristiques

5.2- Gènes de contrôle de la détermination et de la différenciation

6- Mécanismes moléculaires de la détermination et de la différenciation

6.1- Prolifération, différenciation et cycle cellulaire

6.2- Différents types de signalisations inter-cellulaires

Chapitre 2 : Hiérarchie et organisation des phénomènes de différenciation

1- Cycle de reproduction de drosophile

2- Fondement de génétique de développement

3- Cycle de développement de drosophile

Chapitre 3 : Etablissement des axes embryonnaires

1- Etablissement de l'axe antéro-postérieur

1.1- Pôle Antérieur

1.2- Pôle postérieur

2- Etablissement de l'axe dorso-ventral

Chapitre 4 : Gènes de segmentations

1- Gènes GAP

2- Gènes Paire Rules

3- Gènes de polarité segmentaires

Chapitre 5 : Gènes homéotiques

1- Gènes homéotiques de drosophile

2- Gènes homéotiques de mammifères

-Autres (travail personnel) : Exposés, Projection vidéo, Ateliers, séries d'exercices.

Analyse d'articles sur l'ensemble du programme.

Mode d'évaluation : Des contrôles continus pendant les séances de travaux dirigés, et examen.

1- Introduction générale

L'étude du développement embryonnaire englobe la description morphologique des transformations conduisant l'œuf fécondé à un organisme pluricellulaire, et l'étude des mécanismes impliqués dans la construction de cet organisme complexe. Le développement embryonnaire, ou embryogenèse, est composé de quatre étapes s'effectuant successivement mais dont les modalités peuvent varier en fonction de l'espèce : la fécondation, la segmentation, la gastrulation et l'organogenèse. L'œuf fécondé, ou zygote, issu de la fusion du gamète mâle et du gamète femelle s'engage rapidement dans la segmentation. C'est le passage d'un état unicellulaire à un état pluricellulaire. La segmentation est caractérisée par une suite de divisions rapides et rapprochées, à interphases très courtes où le génome embryonnaire s'exprime peu. Ces divisions clivent l'œuf en un certain nombre de cellules filles (ou blastomères) sans engendrer un accroissement notable de son diamètre. Au cours de la segmentation l'œuf se creuse, dans la majorité des cas, d'une cavité, le blastocœle, et devient une blastula.

Un des grands défis de la biologie du développement est de comprendre comment la diversité cellulaire est engendrée. Un intérêt majeur est donné aux cellules souches qui sont douées d'auto-renouvellement et de plasticité. Les premiers stades de l'embryogenèse permettent la formation d'une masse de cellules souches totipotentes capables de reconstituer un organisme entier. Le développement de l'embryon amène progressivement à une perte de plasticité des cellules souches et leur différenciation. Une cellule différenciée est dotée d'un programme transcriptionnel spécifique établi par des facteurs de transcription impliqués dans l'initiation de la différenciation puis dans la consolidation et le maintien de l'identité cellulaire. *Drosophila melanogaster* est un modèle de choix pour étudier le développement des organismes complexes de part son cycle de vie court et rapide, la conservation au cours de l'évolution de processus biologiques majeurs et la disponibilité d'une approche génétique solide.

Beaucoup de gènes majeurs impliqués dans le développement ont été identifiés grâce aux travaux sur ce modèle d'étude. En 1995, E.B. Lewis, C. Nusslein-Volhard et E.F. Wieschaus ont reçu le prix Nobel de Médecine et de physiologie pour leur découverte sur le contrôle du développement embryonnaire précoce par les gènes homéotiques et par les gènes déterminant le plan d'organisation des axes majeurs dorso-ventral (D/V) et antéro-postérieur (A/P) chez les êtres vivants.

Chapitre I : Différenciation cellulaire

1. Généralités et définitions

Au cours du développement d'un organisme pluricellulaire, la plupart des cellules issues de la cellule œuf subissent une spécialisation progressive appelée différenciation. La différenciation est l'acquisition par une cellule ou une population cellulaire de caractères morphologiques originaux habituellement en rapport avec une spécialisation fonctionnelle (Figure 1). La différenciation cellulaire est due à une combinaison de facteurs de transcription.

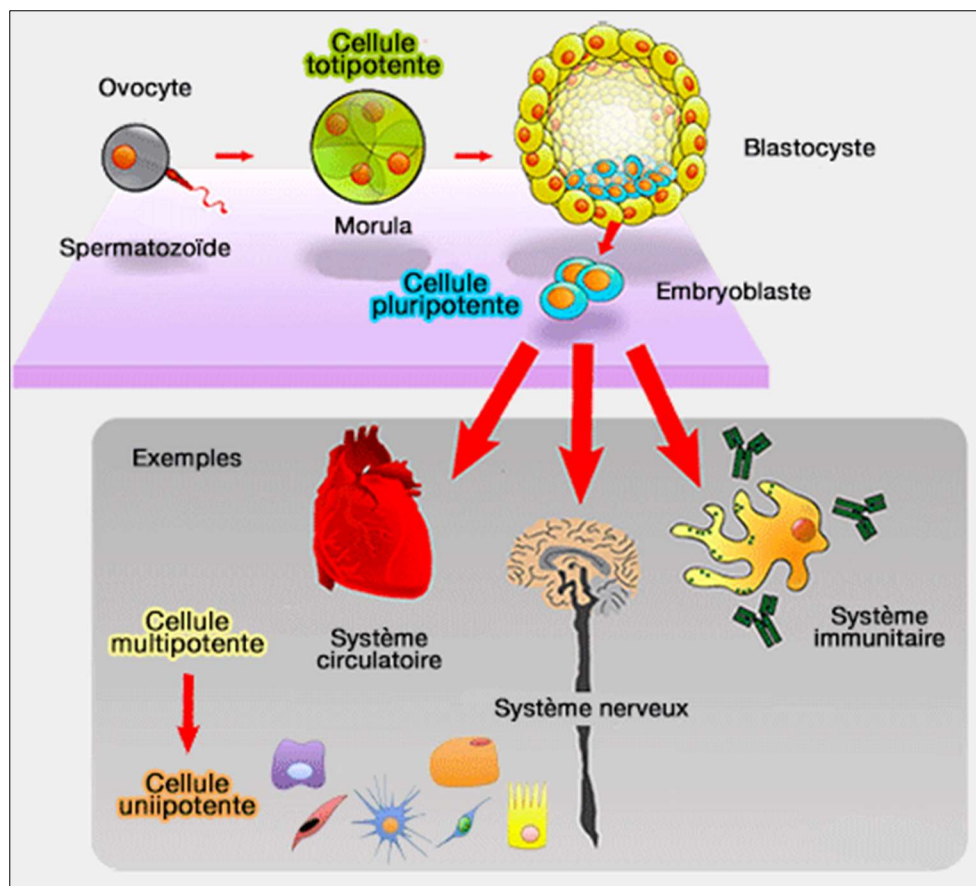


Figure 1 : Différenciation cellulaire (Jones et Thomson., 2000)

2. Différenciation et morphogènes

La différenciation nécessite la définition des coordonnées spatiales de la cellule, l'obtention de l'identité tissulaire et la réalisation de mouvements morphogénétiques. L'expression ou l'inhibition de gènes spécifiques correspond à la différenciation terminale.

2.1. Au niveau de l'organisme entier

Au niveau d'un organisme entier, c'est le développement embryonnaire précoce. Ensemble des transformations que subit l'embryon avant d'acquies sa forme spécifique.

2.1.1. Au stade du zygote

La cellule qui constitue le zygote est soumise à l'influence des conditions biochimiques du milieu (pH, facteurs de croissance et hormones). Cette cellule est totipotente. Les composés cytoplasmiques sont répartis de manière inégale et certaines informations proviennent de l'expression de gènes maternels avant la fécondation.

2.1.2. Aux stades précoces : segmentation et gastrulation

Les divisions cellulaires peuvent être symétriques ou asymétriques.

- **Au stade morula**, les cellules sont totipotentes. Les cellules situées à l'extérieur sont sous l'influence du milieu extérieur ; les cellules situées à l'intérieur sont au contact des autres cellules.

- **Au stade blastocyste**, les cellules sont pluripotentes ; elles sont déjà restreintes à certaines voies de différenciation. Les cellules de la couche externe donnent le trophoblaste. Les cellules de la masse interne donneront les cellules de l'embryon et d'une partie des annexes extra embryonnaires.

- **Au stade gastrula**, le plan général du corps de l'animal devient visible (région céphalique et région caudale). Les cellules sont organisées en feuillets.

2.2. Différenciation au niveau d'un organe (organogenèse)

La différenciation au niveau d'un membre antérieur ou postérieur nécessite plusieurs des étapes :

- Formation d'un bourgeon de membre à partir d'ectoderme et de mésoderme
- Différenciation des chondrocytes pour le cartilage, des ostéocytes pour l'os, des myocytes pour les muscles. Les interactions entre les cellules mésodermiques et l'ectoderme sus jacent vont définir la régionalisation dorso ventrale du futur

membre. Ainsi, la différenciation cellulaire peut être analysée aux niveaux tissulaires, cellulaire et moléculaire.

2.2.1. Au niveau génétique

Il est bien connu que les gènes sont transcrits en protéines. Les protéines produites peuvent être des inhibiteurs ou des activateurs d'expressions géniques. Ainsi la protéine produite peut inhiber la transcription de son propre gène et /ou celles d'autres gènes. Les mêmes interactions peuvent s'établir avec des protéines activatrices. Les inhibitions et activations protéiques nécessitent la plupart du temps la contribution de métabolites intermédiaires (Figure 2). On appelle réseau d'interactions génétiques l'ensemble des interactions entre un groupe de gène, des produits géniques (protéines et enzymes) et des métabolites.

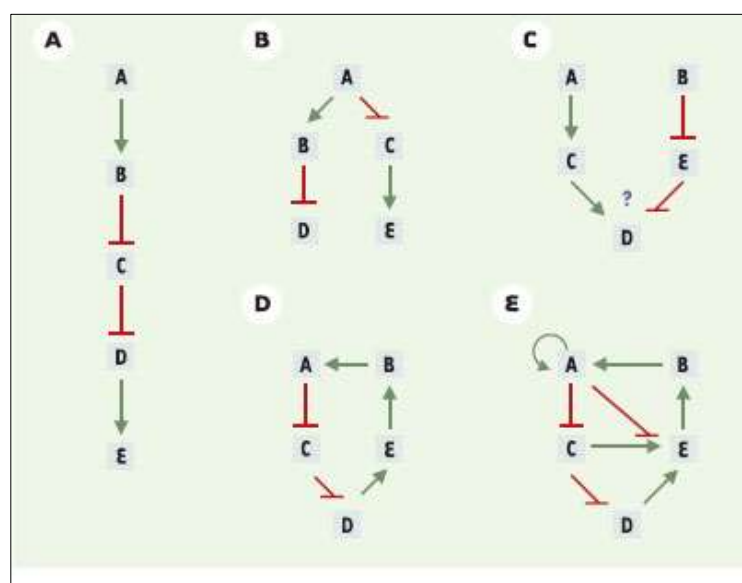


Figure 2: Exemples de graphes d'interaction (Thieffry et De Jong., 2002)

Au sein de ces graphes, les sommets font référence aux gènes. Les interactions entre les gènes A-E sont représentées par des arcs terminés par une flèche verte (activations) ou par un trait perpendiculaire rouge (inhibitions). Les détails moléculaires à la base de ces interactions sont implicites (transcriptions, traductions, associations et interactions entre macromolécules, etc.). Un arc représente par conséquent l'effet global (positif ou négatif) de l'expression d'un gène sur celle d'un autre gène. Dans les cas **A**, **B** et **C**, il est facile de prédire les répercussions d'une surexpression ou d'une perte de fonction d'un gène à quelque niveau que ce soit dans la hiérarchie. Le cas **D** représente une cascade de régulation bouclée sur elle-même : l'expression de chaque gène, directement influencée par un seul gène et influençant directement un seul autre gène, dépend aussi indirectement de sa propre expression. Enfin, le cas **E** comporte plusieurs circuits imbriqués, ce qui complique sérieusement toute analyse intuitive.

2.2.2. Niveau protéique et moléculaire

Les produits géniques servent notamment à la production des enzymes nécessaire au déroulement du métabolisme des organismes. Les interactions entre les niveaux moléculaires et génétiques sont fortes, puisque les métabolites interviennent en retour dans le réseau d'interactions génétiques.

2.2.3. Niveau macromoléculaire

Le métabolisme moléculaire produit des macromolécules, de première importance pour l'établissement de la forme cellulaire, tel que les filaments d'actine ou les microtubules. Ces macromolécules s'organisent en réseau de filaments, qui constituent le squelette des cellules. Elles interviennent dans plusieurs processus déterminants de la morphogenèse, comme la croissance cellulaire, la migration cellulaire par formation de filopodes, ou la déformation cellulaire par contraction de filaments.

2.2.4. Niveau cellulaire

La cellule apparait comme un système fermé, isolé par une membrane. Chaque cellule possède un noyau, où sont localisé les gènes, et un cytoplasme comportant les molécules et macromolécules. La membrane extérieure est perméable et permet une communication avec l'environnement, notamment par l'internalisation de molécules (endocytose). Plusieurs dynamiques cellulaires sont les moteurs élémentaires de la morphogenèse : la migration, la division, la croissance, l'apoptose ou encore la différenciation.

2.2.5. Niveau tissulaire

Un tissu est un ensemble de cellules identiques, participant à une fonction commune. On distingue deux grands types de tissus : les épithéliums et les tissus conjonctifs. Ils jouent un rôle prédominant dans la morphogenèse. Chez les animaux triploblastiques, ces deux catégories de tissus ont une origine différente. Les épithéliums dérivent principalement des tissus embryonnaires de l'endoderme et de l'ectoderme, alors que les tissus conjonctifs proviennent du mésoderme.

3. Prolifération cellules souches et lignage cellulaire

L'homéostasie tissulaire normale est maintenue grâce à un équilibre étroitement contrôlé entre la mort et le renouvellement des cellules. Le maintien de cette balance à l'équilibre implique l'existence de cellules capables de s'autorenouveler ou de se différencier.

Les cellules souches adultes et les cellules progénitrices assurent ces cycles biologiques de renouvellement et de différenciation en étant les unités fonctionnelles de régénération impliquées dans l'homéostasie et la réparation tissulaire. Des cellules souches spécifiques de tissus ont été décrites pour la première fois dans le système hématopoïétique en 1964 par Lajtha et al. Ces derniers ont introduit le concept de cellules souches multipotentes capables d'effectuer une division asymétrique donnant naissance à une cellule souche et une cellule différenciée. Ces cellules souches sont par définition capables de reconstituer tous les types cellulaires différenciés du système hématopoïétique. De cette découverte initiale a émergé le concept d'une véritable « hiérarchisation cellulaire » dans les tissus. Au sommet de cette hiérarchie se trouve une cellule souche résidente indifférenciée capable d'effectuer une mitose asymétrique produisant une cellule souche fille (cellule immature identique à la cellule mère) rendant ainsi « pérenne » le stock de cellules souches, et une cellule progénitrice engagée dans les voies de la différenciation. Il existe donc de nombreux types de cellules souches capables de s'autorenouveler avec des potentialités de différenciation plus ou moins restreintes.

3.1 Cellules souches

Ainsi deux caractéristiques essentielles définissent les cellules souches et les distinguent des autres types cellulaires :

- Une cellule souche est une cellule non spécialisée qui se renouvelle pendant de longues périodes par division cellulaire ; cette propriété évite le tarissement du réservoir de cellules souches (capacité d'auto-renouvellement)

- Sous certaines conditions physiologiques, physiopathologiques ou expérimentales, la cellule souche est capable de se différencier en cellule spécialisée, par exemple en un hépatocyte produisant des facteurs de la coagulation, une cellule pancréatique produisant de l'insuline ou un neurone produisant une activité électrique (capacité de différenciation) (Figure 3)

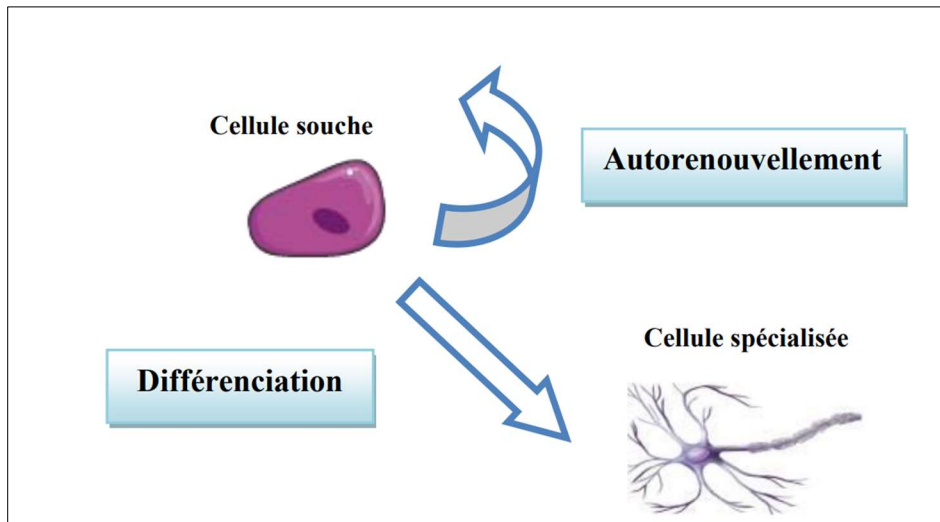


Figure 3: Caractéristiques d'une cellule souche (Reppel., 2011)

La cellule souche primitive est capable à la fois de s'auto-renouveler et de se différencier. Quand ces cellules souches sont très indifférenciées peuvent avoir des différenciations symétriques pour donner des cellules souches. Le renouvellement des cellules souches soit par division symétrique ou asymétrique, et création de progéniteurs grâce à la division asymétrique (Figure 4).

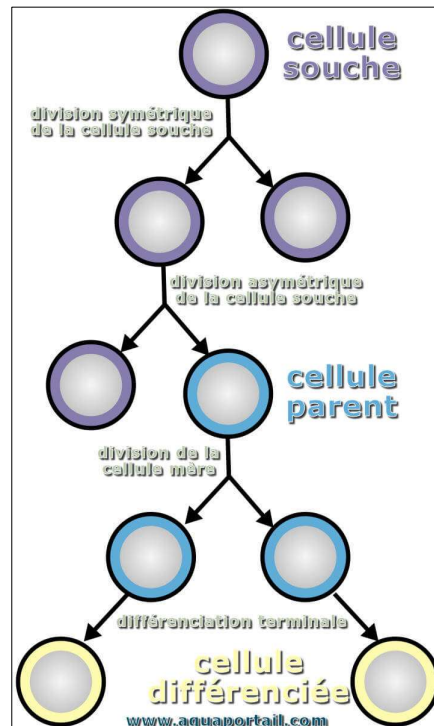


Figure 4: Division de cellules souches

(<https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/4091/differenciation-cellulaire>)

3.1.1 Auto-renouvellement

Capacité d'une cellule à se diviser à l'identique et ceci pendant une période indéfinie. Il conduit à la formation d'un clone cellulaire. La multiplication des cellules souches sans différenciation permet d'entretenir un pool de cellules souches primitives.

3.1.2 Potentiel de différenciation

C'est la capacité d'une cellule de donner dans un environnement défini différents types cellulaires fonctionnels. C'est la possibilité pour une cellule souche, sous l'influence de facteurs cellulaires ou solubles, de se diviser en s'engageant de façon irréversible, vers une ou plusieurs lignées. La cellule perd alors sa totipotence pour devenir une cellule souche engagée.

Les cellules souches sont caractérisées par des stades de maturations différentes qui déterminent leur potentiel de différenciation. Ces stades de maturation sont fortement liés au développement. On identifie des cellules (Figure 5) :

- Totipotentes
- Pluripotentes
- Multipotentes
- Unipotentes

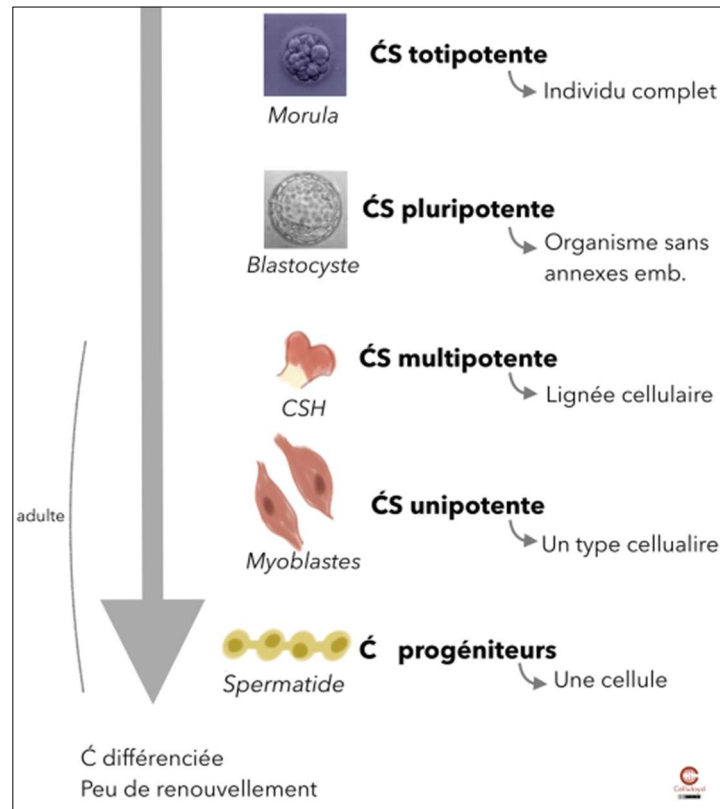


Figure 5: Stades de différenciation des cellules souches
<https://celluloyd.tumblr.com/post/155595863902/stades-de-diff%C3%A9renciation-des-cellules-souches-il>

3.2 Cellules totipotentes

Cellules pouvant donner toutes les lignées cellulaires y compris les annexes embryonnaires. Ces cellules sont capables de donner naissance à un individu entier. Chez les mammifères, cellules issues des premières divisions de l'œuf fécondé, c'est-à-dire du zygote au stade Blastomère (8 cellules au 4^{ème} jour) (Tableau 1).

Tableau 1 : Types de cellules souches, plasticité et origine (Campeau-Péloquin et Roy., 2019)

| Cellules souches | | | | |
|------------------|--|--|--|--|
| Types | Totipotentes | Pluripotentes | Multipotentes | Unipotentes |
| Plasticité | Très grande | Grande | Moyenne | Faible |
| Origine | CSE | CSE, cellules germinales embryonnaires, cellules de carcinome embryonnaire, SPi | Cellules souches fœtales, cellules amniotiques, cellules souches adultes | Cellules souches adultes |
| Exemple | <p>Zygote Stade à 2 cellules Stade à 4 cellules Stade à 8 cellules</p> | <p>Cellules germinales embryonnaires Embryoblaste dans un blastocyste Facteurs de différenciation définis Cellules SPi</p> | <p>Cellules hématopoïétiques</p> | <p>Cellules spécialisées (épithéliale, nerveuse, sanguine, musculaire, etc.)</p> |

3.3 Cellules pluripotentes

Cellules pouvant donner toutes les lignées cellulaires constituant un individu, mais pas les annexes embryonnaires. Elles sont incapables d’engendrer un organisme dans sa totalité. Elles sont capables de se différencier en plus de 200 types cellulaires. Cellules souches embryonnaires (ES) (embryon de 5 à 7 jours) Cellules souches de la lignée germinale (embryon de 5 à 10 semaines) (Figure 6)

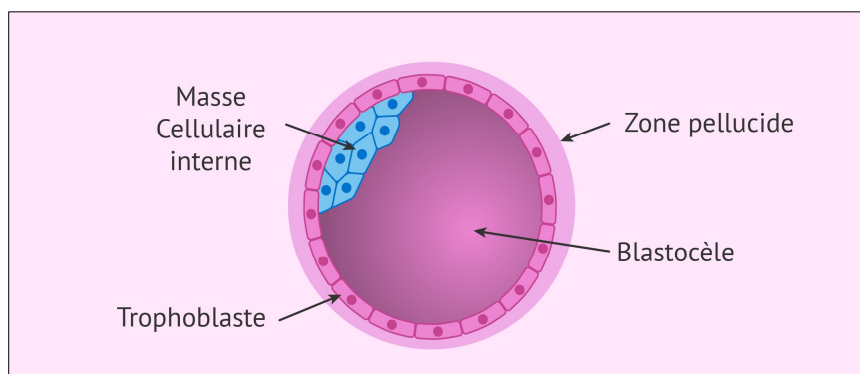


Figure 6 : Localisation des cellules souches embryonnaires (<https://babygest.com/fr/implantation-des-embryons/blastocyste-2/>)

3.4 Cellules multipotentes

Ce sont des cellules pouvant donner les différents types de cellules spécialisées d'un lignage cellulaire donné. Elles sont présentes dans tout l'organisme adulte mais très peu nombreuses. Elles sont présentes dans le sang du cordon ombilical. Elles sont dites multipotentes car elles donnent différentes lignées cellulaires.

Exemple :

- Cas des cellules hématopoïétiques qui vont créer les globules rouges, blancs, lymphocytes et certaines structures vasculaires et cellules mésenchymateuses,
- Cas des cellules capables de créer les neurones que les cellules de soutien nerveuses (Figure 7).

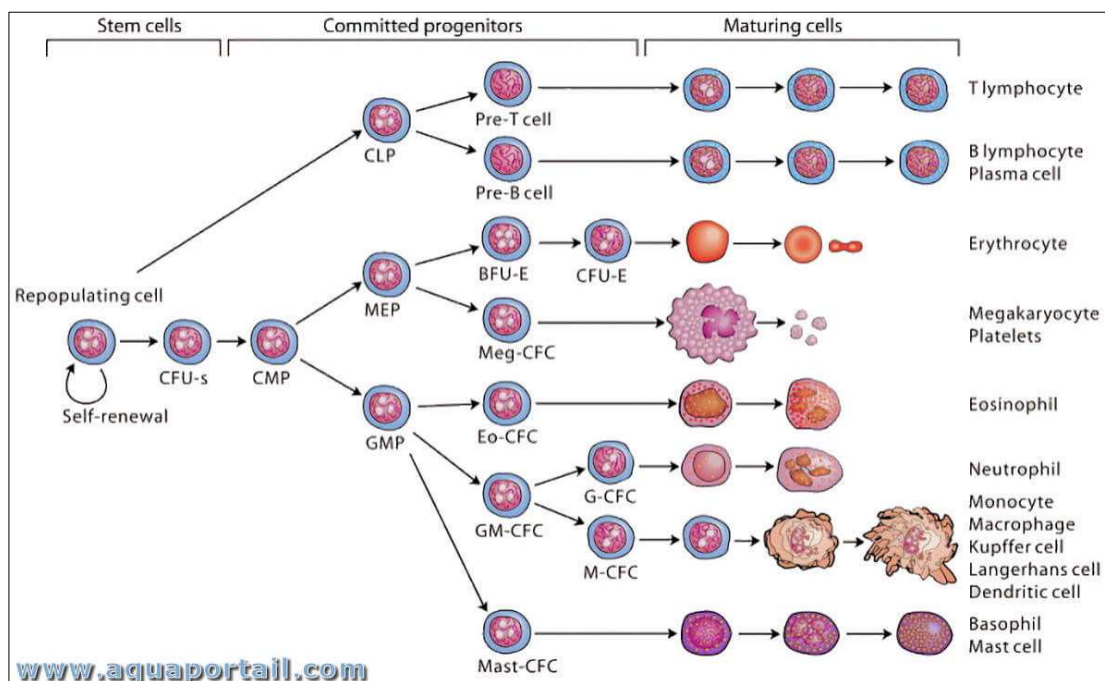


Figure 7: Cellules souches hématopoïétiques

(<https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/7093/hematopoiétique>)

3.5 Cellules unipotentes

Elles ne peuvent former qu'une seule sorte de cellules différenciées. Ce sont des cellules différenciées qui conservent la propriété de s'auto-renouveler. Elles sont présentes dans les tissus adultes, peu nombreuses (Figure 8).

Exemple :

- Myoblaste (cellules satellites)
- Hépatocytes
- Kératinocytes (dans la peau).

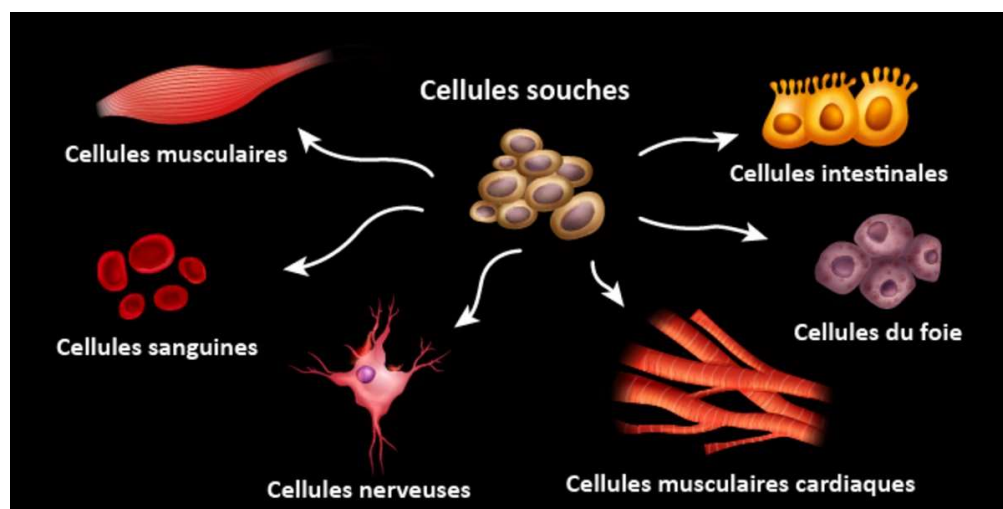


Figure 8: Cellules souches unipotentes

(<https://www.simplyscience.ch/fr/jeunes/geneabc/cellules-souches>)

4 Différents types de cellules souches

Les cellules souches se distinguent selon leur origine (embryonnaire, fœtale, amniotique, adulte) et selon le nombre de types cellulaires différents qu'elles sont capables de produire (cellules toti-, pluri-, multi-, tri-, bi- ou monopotentes). Trois grands types de cellules souches ont été particulièrement caractérisés :

- Les cellules souches embryonnaires totipotentes (*ES, embryonic stem cells*)
- Les cellules souches fœtales comprenant des cellules souches somatiques et des cellules germinales (*EG, embryonic germ cells*)
- Les cellules souches des tissus adultes

4.1 Cellules souches embryonnaires (ES)

Isolées et cultivées à partir de la masse interne du blastocyste, De lignées existantes, D'embryons surnuméraires, ou De transfert nucléaire somatique. Elles sont *pluripotentes, voire totipotentes puisqu'elles peuvent* produire tous les feuilletts embryonnaires (mésoderme, endoderme, ectoderme) et les tissus qui en dérivent, ainsi que les cellules germinales. Les cellules ES pouvant reformer un embryon mais à la stricte condition qu'elles soient réintroduites dans un blastocyste appelé hôte. En aucun cas, elles ne sont capables de générer, à elles seules, un embryon viable (Figure 9).

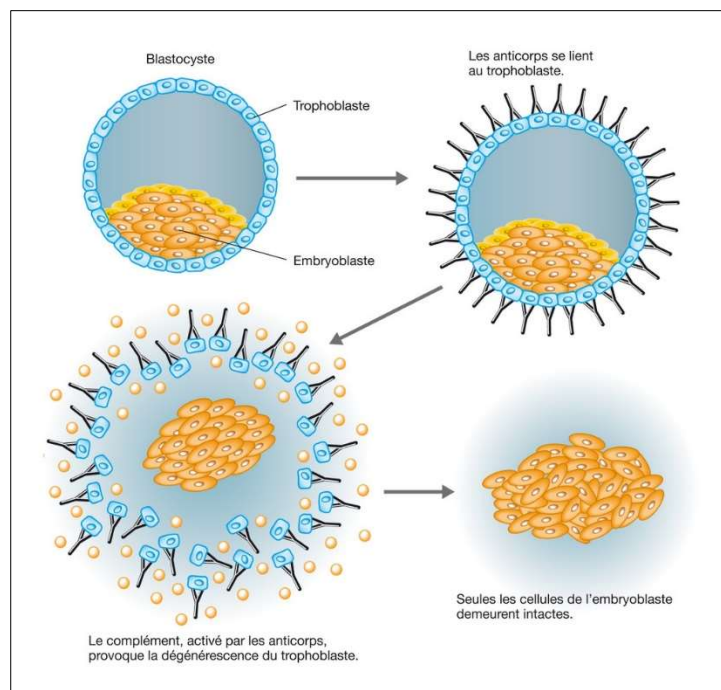


Figure 9: Blastocyste embryonnaire source de cellules souches embryonnaires (Campeau-Péloquin et Roy., 2019)

4.2 Les cellules souches fœtales :

Issues de tissus fœtaux à un stade beaucoup plus tardif (5-9 semaines) que le stade de blastocyste embryonnaire Isolées à partir de fœtus résultant d'avortements. Deux classes distinctes :

4.2.1 Cellules somatiques fœtales :

Elles représentent principalement deux tissus particulièrement importants dans une perspective thérapeutique : cellules souches du système nerveux central (maladie de Parkinson ou de Huntington), et hépatocytes fœtaux (transplantation).

4.2.2 Cellules fœtales germinales :

Elles sont issues de l'ébauche du tissu germinal de fœtus. Elles sont "pluripotentes" comme les cellules ES et ont la même capacité de prolifération que ces dernières. Leur génome est toutefois moins stable que celui des ES, ce qui les rend, pour l'instant, inutilisables dans une perspective thérapeutique, alors qu'elles ouvrent d'importantes perspectives en recherche fondamentale.

4.3 Cellules souches adultes :

A la différence des cellules embryonnaires, elles ne sont pas totipotentes et sont généralement programmées pour un tissu donné. Elles ne se multiplient pas à l'infini à l'état indifférencié. Elles sont très hétérogènes, compte tenu de la diversité des tissus de l'organisme auxquels elles appartiennent. Certaines sont pluripotentes comme les cellules souches hématopoïétiques qui produisent toutes les lignées sanguines et s'auto-renouvellent. Certaines sont multipotentes comme les cellules souches nerveuses qui produisent les neurones mais également les cellules accessoires du système nerveux (astrocytes, oligodendrocytes). Certaines sont unipotentes et ne produisent qu'un seul type de cellules comme les cellules « souches » de l'épiderme qui ne produisent que les kératinocytes (Figure 10).

Elles assurent l'homéostasie, c'est-à-dire le maintien physiologique d'un organe ou d'un tissu, en remplaçant les cellules mortes, que ce soit naturellement ou après une lésion, assurant ainsi la pérennité de la fonction de l'organe pendant la vie de l'individu. Elle remplit cette fonction, d'une part en se multipliant à l'identique (ce qui évite le

tarissement du réservoir de cellules souches), d'autre part en se différenciant, acquérant ainsi les caractéristiques du tissu à réparer.

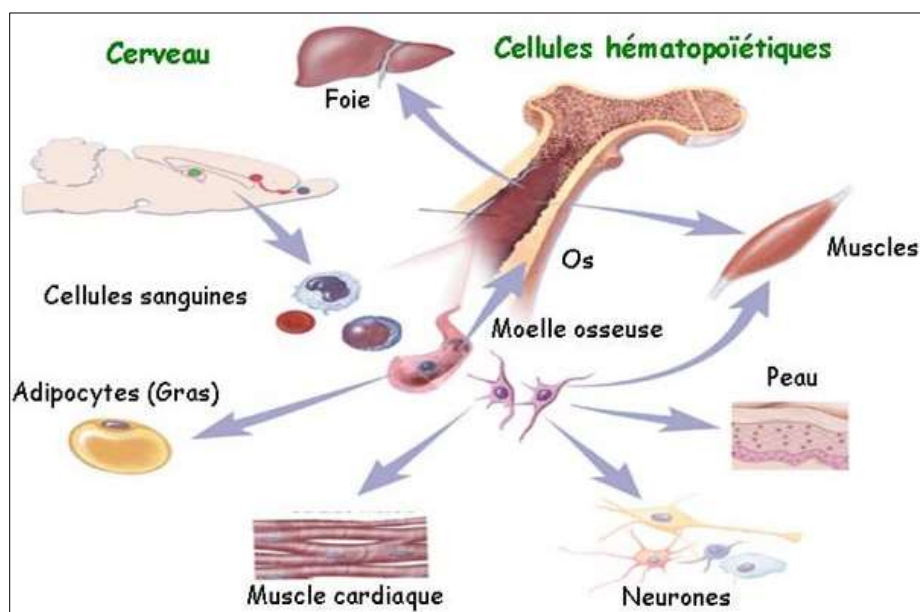


Figure 10: Localisation des cellules souches adultes
(<https://www.alimentationvivante.com/cellules-souches-sante/>)

4.4 Intérêt thérapeutique des cellules souches :

Les cellules souches de certains organes sont enfouies dans le tissu et donc très difficiles d'accès (foie, cerveau, intestin...). Elles existent en nombre infime et l'absence de marqueurs spécifiques connus ne permet pas de les purifier. On ne connaît pas toujours les conditions permettant de les faire se multiplier in vitro. On ne dispose pas toujours de modèles mimant la situation observée chez l'homme permettant d'évaluer leur fonction. Dans les maladies avec anomalies génétiques, celles-ci se perpétueraient au cours des divisions si les greffes sont autologues. Des anomalies de structure de l'ADN (à la suite d'exposition à la lumière, Aux toxiques entraînant des erreurs de réplication) seraient maintenues.

4.4.1 Cellules sanguines

Le receveur malade reçoit, à partir d'un donneur sain, la moelle osseuse contenant les CSH qui vont produire, chez le receveur, des cellules sanguines normales.

4.4.2 Peau

Le patient malade est greffé avec une « peau artificielle » obtenue par la multiplication de cellules souches épidermiques prélevées sur une portion de peau saine du malade. Il y a dans ces conditions réparation de l'épiderme et du derme superficiel.

4.4.3 Os

Dans les grands dégâts osseux, la réparation osseuse est accélérée par l'implantation de matériaux artificiels et de CSM isolées à partir de la moelle osseuse du malade, cellules capables de produire des ostéoblastes.

4.4.4 Cerveau

Dans certaines maladies dégénératives (maladie de Parkinson ou de Huntington), il est actuellement possible d'implanter des neurones fœtaux et d'améliorer la symptomatologie des malades.

4.4.5 Cellules musculaires

L'expansion puis l'injection de progéniteurs musculaires (myoblastes) est actuellement utilisée dans des essais cliniques de traitement de l'insuffisance cardiaque sévère ou de dystrophies musculaires.

4.4.6 Pancréas

Des greffes de cellules bêta des îlots de Langerhans isolées à partir de l'organe sont réalisées dans le traitement du diabète de type I.

4.4.7 Œil

Les cellules souches limbiques peuvent être greffées après expansion pour le traitement des atteintes oculaires sévères uni ou bilatérales.

5 . Clones et lignage cellulaire

Un clone cellulaire est issu de la succession de réplifications et de mitoses d'une unique cellule initiale. Ainsi, un clone cellulaire est un ensemble de cellules génétiquement identiques (Figure 11). Un clone peut être constitué de cellules séparées : nombreuses bactéries, cellules sanguines humaines, levures, etc. Un clone peut être constitué de cellules associées de manière stable, au sein d'un tissu : épithélium intestinal, tissu musculaire, tissu hépatique, etc

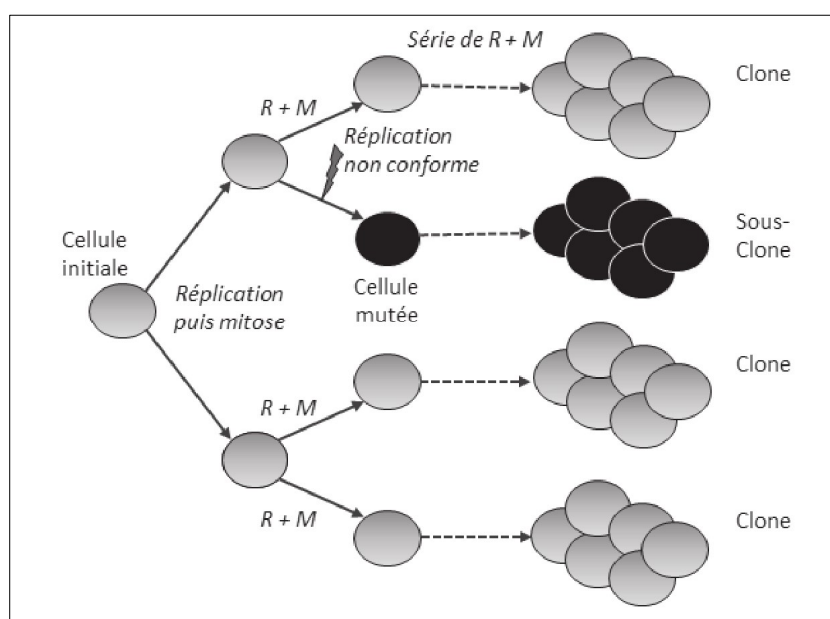


Figure 11: Notion de clone et création de sous clone (https://www.editions-ellipses.fr/PDF/9782340047365_extrait.pdf)

5.1 Lignage cellulaire

C'est l'ensemble de tissus ou cellules issues d'une seule cellule chez l'embryon. La micro-injection de traceur de lignage cellulaire dans les cellules au stade de la jeune gastrula permet de suivre le déplacement de ces cellules au cours des mouvements de la gastrulation.

Ici (Figure 12) deux cellules ont ainsi été marquées dans la lèvre dorsale du blastopore (1). Leur observation en microscopie à fluorescence montre qu'elles se dirigent vers le blastopore puis entrent dans l'embryon par le bord d'enroulement du blastopore (2 à 10). Celle de droite plus proche disparaît la première à l'observateur (6).



Figure 12: Micro-injection de traceur de lignage cellulaire dans les cellules au stade de la jeune gastrula (<https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/CoursPCEMDEUG/Lignage1.htm>)

6 Spécification et détermination

6.1 Spécification

Une cellule est spécifiée si elle est capable de se différencier de manière autonome quand elle se trouve dans une boîte de culture, c'est à dire, dans un environnement neutre. Il existe trois sortes de spécifications :

- La spécification autonome, chez les invertébrés inférieurs.
- La spécification syncytiale, chez la plupart des insectes.
- La spécification conditionnée, chez les vertébrés.

La spécification se fait par interaction entre les cellules et la position est très importante. Les cellules ont à l'origine la capacité de s'engager dans plus d'une voie de différenciation, mais les interactions avec les cellules voisines limitent leurs possibilités

6.2 Détermination

Une cellule est déterminée si elle est capable de se différencier de manière autonome en étant implantée dans une autre région de l'embryon. Une cellule est déterminée si elle a subi un changement auto-reproductif d'une caractéristique. Une cellule déterminée est engagée dans une voie de différenciation, mais n'a pas les caractéristiques de sa différenciation terminale (Figure 13).

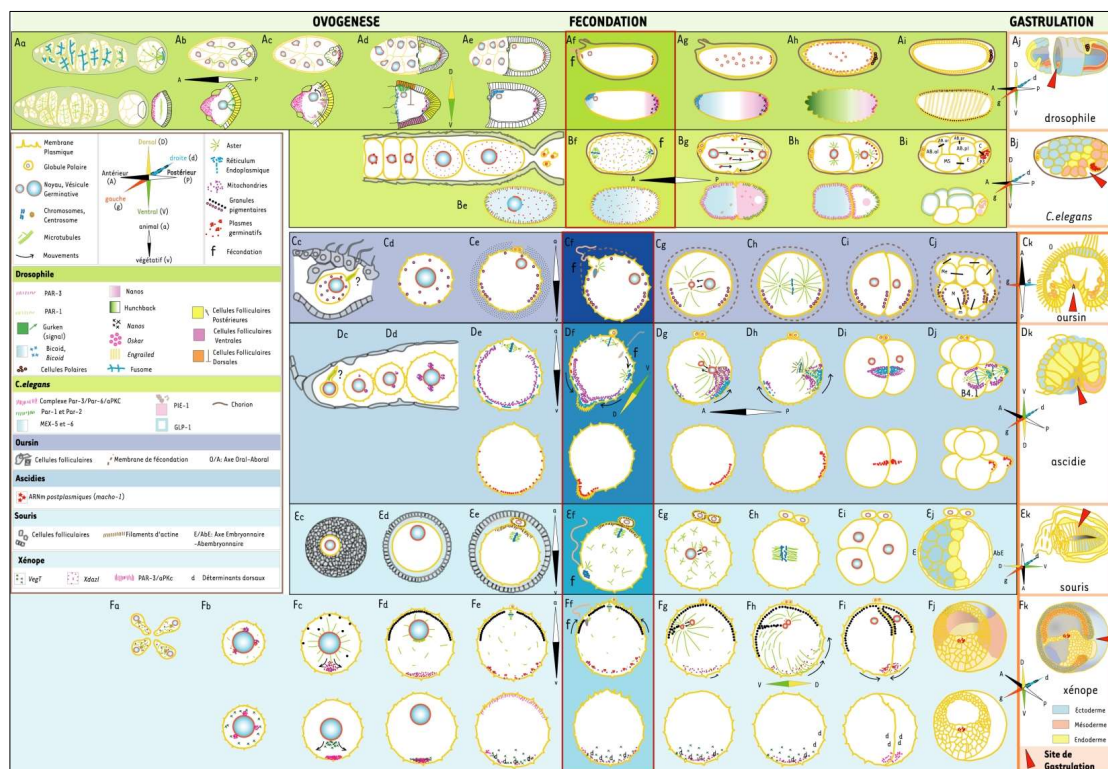


Figure 13: les différents types de spécification (Sardet et Prodon., 2004)

7- Différenciation

La formation de types cellulaires spécialisés à partir d'une cellule indifférenciée. La différenciation correspond à l'acquisition d'une fonction et d'une morphologie spécialisée définitive. Plus les cellules sont différenciées et plus le répertoire de gènes exprimés se restreint et moins il y a de possibilités d'adaptations (Figure 14).

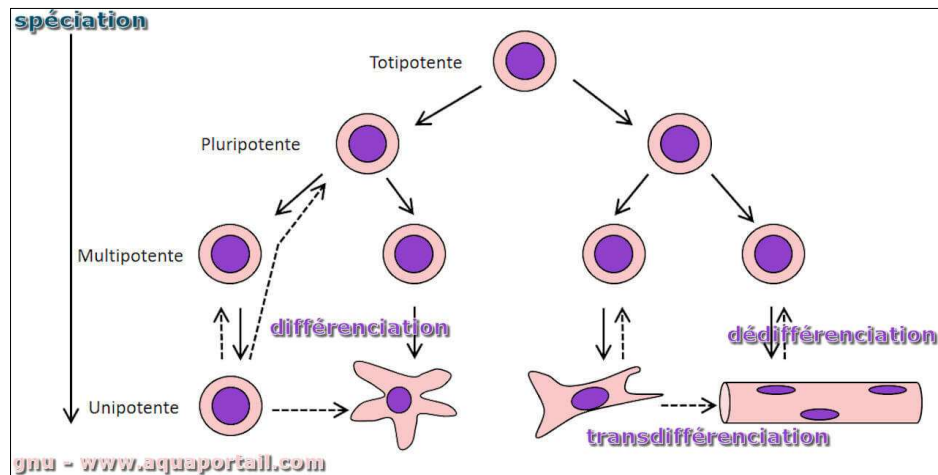


Figure 14: Différenciation cellulaire

(<https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/4091/differentiation-cellulaire>)

7.1 Caractéristiques de la différenciation

Elle est induite par des signaux extérieurs et par un programme de détermination interne. Elle est mise en évidence par l'intermédiaire des modifications qualitatives du phénotype, dues à la synthèse de nouveaux produits par les gènes.

7.2 Gènes de contrôle de la détermination et de la différenciation

Le passage de la détermination à la différenciation et les mécanismes de mémoire sont dus aux mêmes types de molécules ou à des variants d'épissage exprimés successivement à différents moments et / ou à différents endroits.

8. Mécanismes moléculaires de la détermination et de la différenciation

8.1 Prolifération différenciation et cycle cellulaire

Une cellule différenciée possède une capacité de prolifération faible. L'expression et / ou la répression de gènes spécifiques au lignage permet des inductions successives de la détermination et la différenciation cellulaire. Il y a d'abord prolifération. Puis, un signal extérieur émanant d'autres cellules du même tissu ou d'un autre tissu entraîne l'arrêt du cycle cellulaire.

8.2 Différents types de signalisations inter-cellulaires

Ils sont dus à des modifications dans l'expression ou la répression de gènes spécifiques. Induction par un système ligand – récepteur. Contacts directs entre cellules d'un même type. Interactions entre cellules de différents feuilletts primitifs : exemple épithélium / mésenchyme.

8.2.1 Induction par un système ligand – récepteur :

Ces interactions sont médiées par les facteurs de croissance ou les hormones et leurs récepteurs.

- Récepteurs à tyrosine kinase : FGF, EGF, TGF et CAM (sélectines / sucres ; cadhérines / caténines ; intégrines / laminine, fibronectine, fibrinogène ...
- Hormones liposolubles et récepteurs nucléaires (acides rétinoïque, hormones stéroïdes, thyroxine).
- Récepteurs couplés aux protéines G (acétylcholine, sérotonine, ...)

La régulation génique se fait par l'intermédiaire de différentes voies de signalisation intracellulaires (voir cours sur la communication cellulaire).

9. Différenciation du tissu musculaire

Dans le développement du muscle, prolifération et différenciation s'excluent mutuellement, comme chez les neurones, des adipocytes, des kératinocytes et des cellules sanguines. Des facteurs de transcription de type bHLH sont impliqués dans la différenciation des cellules musculaires et sont présents dès la formation des premières cellules, mais sont inactivés par la présence de facteurs de croissance. Lorsque le signal de différenciation est donné, les facteurs myogéniques s'associent à des inhibiteurs pour permettre la différenciation et le blocage de l'entrée dans le cycle cellulaire.

9.1 Origine des cellules musculaire

Les cellules musculaires ainsi que celle du squelette dérivent des somites sous la forme d'îlots de cellules mésenchymateuses. Les cellules qui vont former le squelette viennent de la partie ventrale du somite = sclérotome. Les cellules qui vont former les

muscles viennent du myotome qui forme avec le dermatome la partie dorsale du somite. La prolifération et la migration de ces cellules est à l'origine de la quasi-totalité des muscles striés des membres et du tronc. La colonisation de ces cellules vers le futur emplacement des muscles débute à la 5^e Semaine de développement (SD) et se termine à la 8^e -9^e SD (Figure 15).

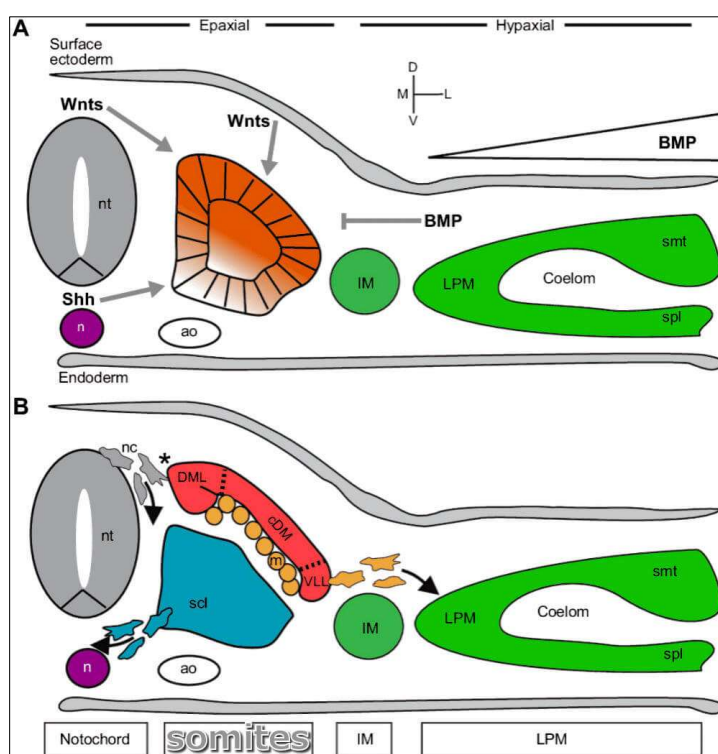


Figure 15: Modélisation des somites et formation des myotomes (<https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/8962/somite>)

9.2 Détermination des cellules musculaires

Au cours du développement, la première étape est la détermination des cellules du mésoderme en cellules myogéniques (myoblastes et cellules satellites), capables de former des muscles. Pour cela, l'expression et l'accumulation des facteurs de transcription MyoD et Myf5 seront décisifs. Faisant partie des protéines bHLH (*basic helix-loop-helix*), ils sont caractéristiques des cellules myogéniques. Leur activation se fait grâce à un autre facteur de transcription, Pax3, normalement exprimé lors des premiers stades du développement embryonnaire par les cellules du mésoderme. Ces deux gènes ont un double rôle : d'une part ils sont responsables de la propagation (c'est-à-dire de la prolifération et, potentiellement, de la migration) des cellules souches du

muscle lors du développement et d'autre part ils permettent d'engager les cellules dans la différenciation terminale.

9.3 Origine des muscles du corps

Au sein de ces unités métamériques de myotomes il va y avoir une différenciation en fonction de l'expression de plusieurs marqueurs spécifiques. Ce sont des gènes de différenciation musculaire : ils agissent sur les cellules du myotome pour les faire se différencier et donner naissance à des cellules musculaires primitives dans un premier temps, avant que celles-ci ne murent ultérieurement.

La différenciation dans l'unité de myotome en fonction de l'expression de plusieurs marqueurs spécifiques qui sont codés par des gènes de différenciation musculaire. Les deux à retenir sont **Myf5** et **MyoD**. Ils sont sous la dépendance d'autres facteurs génétiques comme **Wnt** qui est exprimé par la partie épithéliale de l'ectoblaste et du tube neural. Ce gène **Wnt** agit sur l'expression de ces 2 marqueurs au niveau du myotome au même titre que **Pax3** (agit de préférence sur **MyoD**). D'autres gènes interviennent, comme **Bmp4** qui régule l'expression de manière négative en particulier de **MyoD**. Une partie du myotome exprime le gène **Myf5** : elle est à l'origine de l'épimère qui va former les cellules musculaires qui vont migrer en arrière du tube neural et donc en arrière des futures vertèbres. Cela forme les muscles dorsaux de la colonne vertébrale et les muscles extenseurs des membres supérieurs. L'autre partie exprime le gène **MyoD** : elle est à l'origine de l'hypomère qui va former les cellules musculaires qui vont migrer ventralement et donner les muscles du ventre, du tronc et des fléchisseurs des membres (Figure 16).

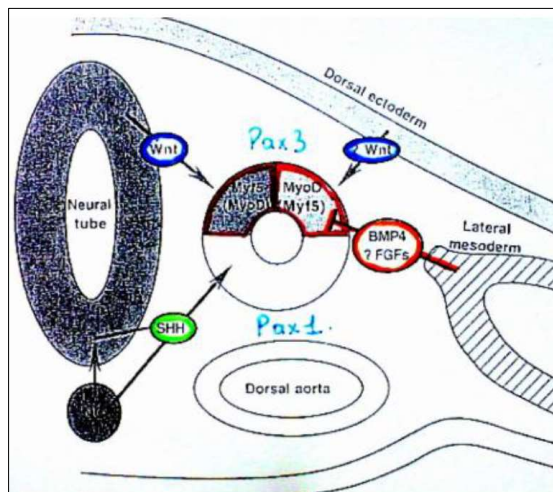


Figure 16: Différenciation et détermination des cellules souches mésenchymateuses (Cadot., 2018)

9.4 Histogenèse musculaire

Dans un premier temps, une cellule mésenchymateuse (issue du myotome) se différencie en cellule musculaire primitive : le myoblaste. Ce myoblaste va s'agencer pour former une fibre immature : le myotube non strié, caractérisé par des noyaux centraux. Secondairement on a la mise en place de la striation avec des stries longitudinales et transverses, qui donne un myotube strié. Les noyaux vont ensuite migrer en périphérie de la fibre pour obtenir une fibre musculaire striée squelettique définitive. Cette différenciation a lieu jusqu'à la 14e SD (Figure 17).

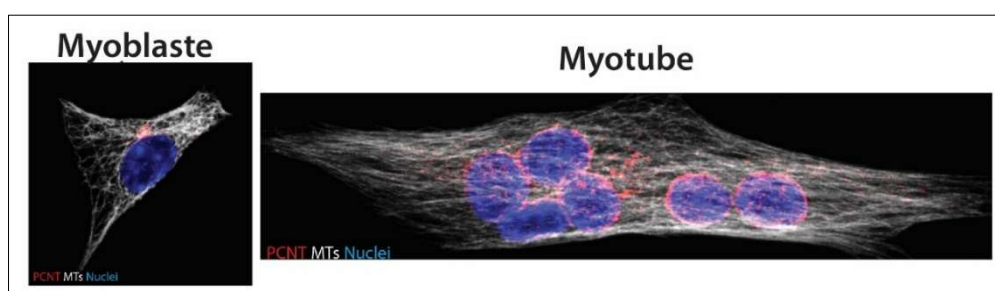


Figure 17: Structure du myoblaste et les myotubes (Cadot., 2018)

Après l'induction de MyoD et/ou Myf5, les cellules du muscle (MPCs) sont engagées dans le lignage musculaire (myoblaste). Plus tard, l'activation des MRFs secondaires (myogénine et MRF4) induit la différenciation musculaire terminale des myoblastes, qui expriment alors les protéines spécifiques du muscle et fusionnent en

myotube multinucléés. Les myotubes subissent finalement une dernière étape de maturation, avec notamment leur innervation par les motoneurones, pour donner les myofibres striés (Figure 18).

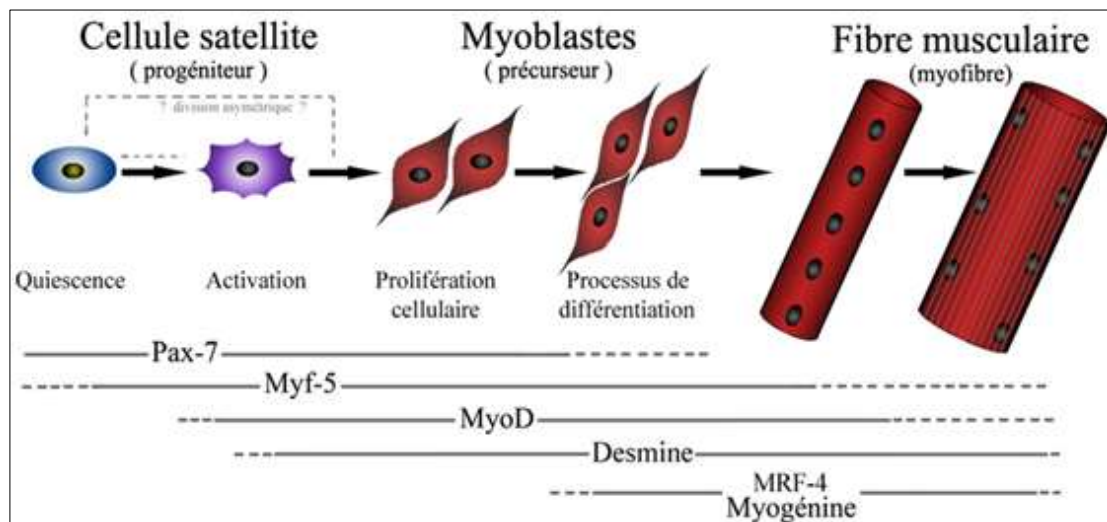


Figure 18: Formation du muscle squelettique (Cadot., 2018)

Au cours de la différenciation musculaire, MyoD déjà exprimé dans les myoblastes active l'expression de la myogénine, MRF4 et Mef2. En retour, la myogénine et Mef2 stimulent l'expression de MyoD. Mrf4 stimule également l'expression de la myogénine et Mef2 (Figure 19).

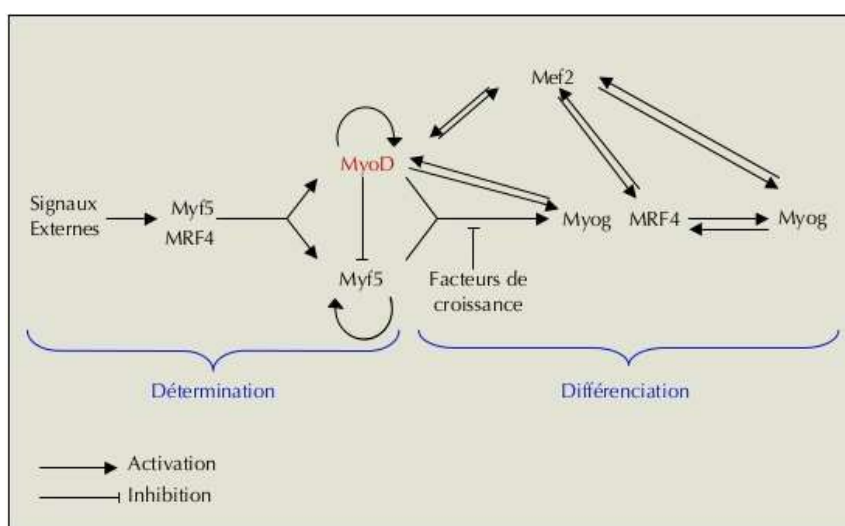


Figure 19: Les signaux de la détermination et différenciation musculaire (Cadot., 2018)

De la détermination des cellules du mésoderme à la maturation en myofibres, de nombreuses étapes sont nécessaires. L'absence, la perte de fibres musculaires, ou des exercices musculaires prolongés et fréquents provoquent la sortie de quiescence des cellules satellites qui prolifèrent alors pour produire de nouvelles cellules musculaires. Toutefois, il est nécessaire qu'une partie de ces cellules retourne à l'état quiescent pour être disponibles lorsqu'un besoin se représentera, et pour cela, p27 sera décisif ainsi que la voie moléculaire de Notch. Les cellules satellites sont en temps normal à l'état quiescent et expriment le facteur de transcription Pax7.

La première étape de la différenciation des cellules satellites, irréversible chez la plupart des organismes, est la sortie du cycle cellulaire due à l'expression concertée de p21, p57 et p19. La transition est permise par une diminution de l'expression des gènes inhibiteurs du cycle cellulaire, tels que : *p27*, *p57* et *Rb*, et une augmentation de l'expression des gènes activateurs, suivie par l'expression des gènes impliqués dans la différenciation comme *MyoD* ou *Myf5*. Des protéines caractéristiques sont alors exprimées, telles que la myogénine, ou la chaîne lourde de la myosine (MHC, *myosin heavy chain*) (Figure 20).

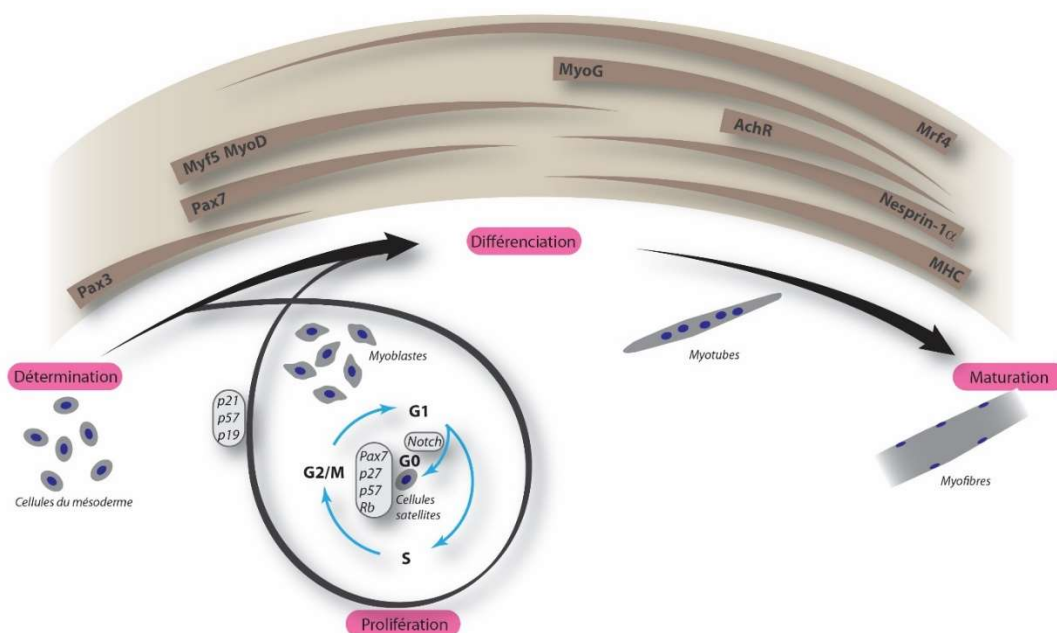


Figure 20 : Les événements génétiques et cytologiques au cours de la formation des fibres musculaires (Cadot., 2018)

Les deux facteurs MRF de détermination jouent des rôles non redondants dans le cycle cellulaire. Des études montrant les profils d'expression distincts et contrastés de MyoD et de Myf5 au cours des différentes phases du cycle cellulaire viennent étayer cette notion. Les niveaux de protéines Myf5 atteignent leur maximum en G₀, diminuent pendant G₁, puis augmentent à nouveau à la fin de G₁ où ils restent stables jusqu'à la mitose. En revanche, il a été démontré que MyoD bloque la transition G₁/S. Ainsi, les niveaux de protéines MyoD atteignent leur maximum au milieu de G₁, sont réduits à leur niveau minimum lors de la transition G₁/S, et sont réaugmentés de S à M. Ces changements dans les niveaux de protéines MyoD et Myf5 au cours du cycle cellulaire sont modulés par des modifications post-traductionnelles qui signalent leur dégradation. Bien que tous les mécanismes de régulation de la stabilité des MRF n'aient pas été établis, plusieurs études ont mis en évidence des modifications qui conduisent à la dégradation de MyoD ou Myf5. En particulier, le niveau de la protéine Myf5 est modulé par sa phosphorylation et sa dégradation ultérieure lors de la mitose (Figure 21).

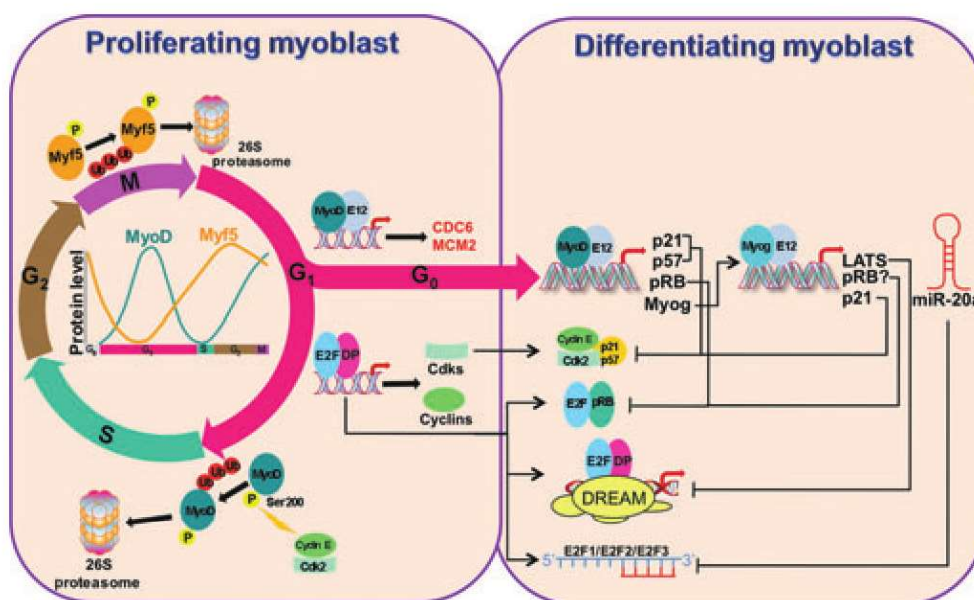


Figure 21: Aperçu schématique de la dialectique entre les MRF et la régulation du cycle cellulaire (Cadot., 2018)

10. Contacts directs entre cellules d'un même type :

Des contacts nombreux s'établissent entre les cellules et les cellules et la matrice extra-cellulaire. On les classe en trois grandes catégories.

Les jonctions serrées, également appelées jonctions étanches, sont constituées de protéines transmembranaires. Elles ne laissent aucun espace entre les membranes des deux cellules, empêchant ainsi les fluides extérieurs de s'infiltrer dans les tissus. Formant une ceinture continue tout autour de la cellule, elles empêchent les protéines membranaires qui peuvent, se déplacer dans la bicouche lipidique. Elles sont donc des éléments déterminants dans la spécialisation des cellules. Ce sont les jonctions serrées qui assurent cette spécialisation territoriale.

Dans presque tout le système nerveux central, des jonctions serrées se mettent en place entre les cellules des capillaires sanguins et des cellules gliales dont nous allons parler plus loin, les oligodendrocytes. Ces jonctions assurent la mise en place de la barrière hémato-méningée qui isole le cerveau et la moelle épinière du reste de l'organisme.

Des jonctions, appelées jonctions communicantes, ou jonctions de type « gap » (gap pour trou en anglais) assurent la continuité entre le cytoplasme de certaines cellules.

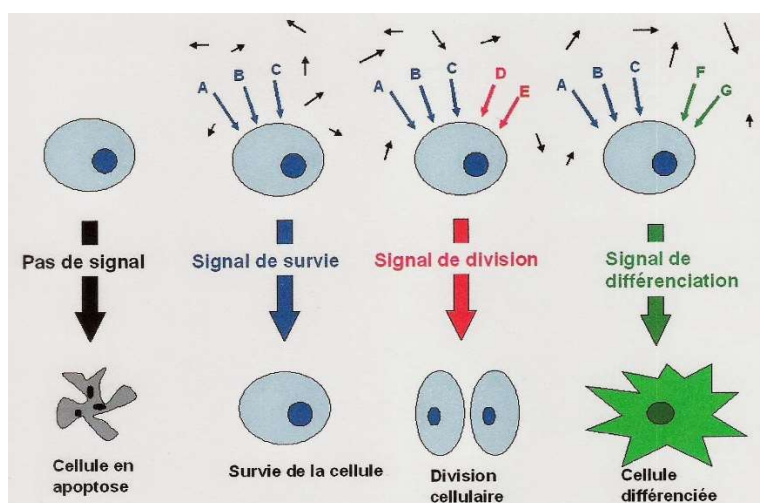


Figure 22: Réponse des cellules aux signaux extracellulaires (Biologie cellulaire., 2004)

11. Interactions entre cellules de différents feuillets primitifs

Le couplage chimique entre des cellules en contact s'effectue par des jonctions de communication. Les canaux de liaison sont formés par des pores (appelés connexons), permettant l'échange d'ions et de molécules hydrosolubles de taille inférieure à 1 000 daltons entre cellules d'un même tissu. Ils sont constitués par l'assemblage de 12 sous-unités protéiques (les connexines), six pour chaque cellule, formant une structure hexagonale limitant un pore central. La famille des connexines comporte une douzaine de membres pouvant s'assembler de façon hétérogène au sein d'un même canal. De ce fait, les jonctions de communication ne semblent pas participer à la ségrégation tissulaire. Ces protéines ont néanmoins une distribution cellulaire distincte ; seules trois connexines ont été décrites dans les cellules endothéliales : Cx37, Cx40 et Cx43, dont le niveau d'expression varie en fonction du type d'endothélium. Comme l'occludine, les connexines contiennent quatre domaines transmembranaires et leurs extrémités N et C-terminales sont situées à l'intérieur du cytoplasme.

Chapitre II : Hiérarchie et organisation des phénomènes de différenciation

1. Définition et concepts de la biologie du développement

Les organismes supérieurs sont tous issus d'une cellule unique, l'œuf fécondé ou zygote. Les différents types cellulaires du corps se distinguent par leur profil protéique (quantité et diversité des protéines). Ce profil génétique est le résultat d'une expression génique particulière.

La génétique de développement consiste à comprendre de quelle façon les cellules vont être dirigées vers les différentes voies du développement produisant une multitude de types cellulaires caractéristiques.

1.1 Lignage cellulaire :

C'est l'ensemble de tissus ou cellules issues d'une seule cellule chez l'embryon. La micro-injection de traceur de lignage cellulaire dans les cellules au stade de la jeune gastrula permet de suivre le déplacement de ces cellules au cours des mouvements de la gastrulation.

Ici à gauche, double lignage cellulaire au cours du développement embryonnaire chez un amphibien. A droite, embryon correspondant observer en lumière normale. Sur l'image de gauche (Figure 23).

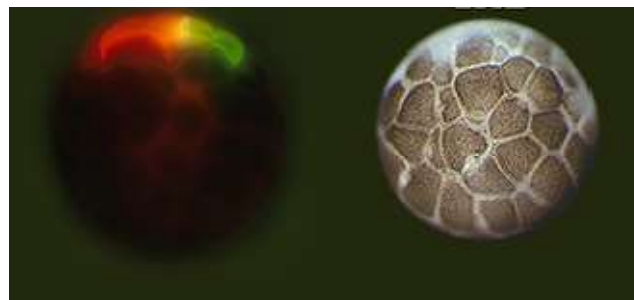


Figure 23: Lignage cellulaire

(<https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/CoursPCEMDEUG/Lignage1.html>)

1.2 Territoire

C'est une région quelconque de l'embryon définie de façon arbitraire.

1.3 Carte de territoires présomptifs

Elle représente dans l'espace à un stade précoce la position des cellules donnant naissance aux différents tissus embryonnaires à un stade plus tardif. Elle peut être établie quand un lignage cellulaire est reproductible d'un embryon à l'autre (Figure 24).

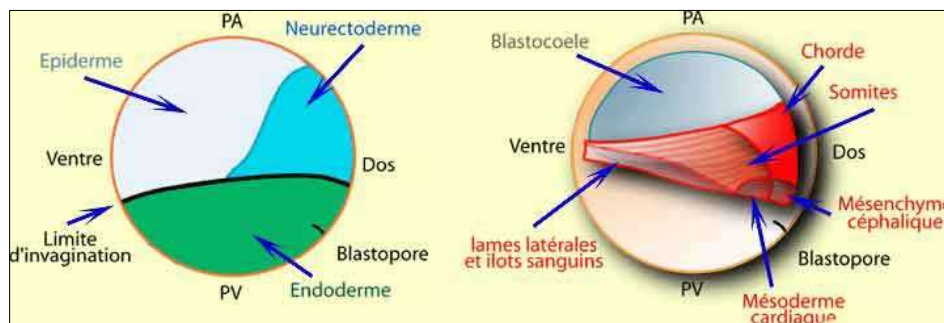


Figure 24: carte des territoires présomptifs chez l'amphibien (Delarue et al., 1992).

1.4 Champ morphogénétique

C'est un ensemble de territoires se développant sous le contrôle des mêmes influences organisatrices. Les cellules d'un champ participent à la formation d'une même structure.

1.5 Engagement et détermination

La cellule est dite engagée dans une voie de développement lorsqu'elle exprime certains gènes caractéristiques de cette voie. Elle est dite déterminée lorsque cet engagement devient irréversible et qu'elle soit capable de se différencier dans une autre région de l'embryon.

1.6 Contrôle génétique maternel ou zygotique :

Le contrôle est dit maternel lorsqu'il est dû à des composants présents dans l'œuf avant fécondation, il est zygotique lorsque ces composants sont issus d'une expression du génome de l'embryon.

1.7 Spécification :

C'est la capacité d'une cellule à se différencier de manière autonome quand elle se trouve mise en culture.

1.8 Gène de développement

Ce sont les gènes qui interviennent précocement au cours du développement embryonnaires et sont responsables de l'établissement des polarités (antéro-postérieure

dorso-ventrale) de l'embryon de la mise en place du plan de base du corps et la spécification des cellules et des territoires devant donner les différents organes.

1.9 Les principales décisions lors de la construction de l'embryon

- La séparation de la lignée germinale et de la lignée somatique
- La détermination du sexe de l'organisme
- La mise en place d'une information de position nécessaire à l'orientation et la mise en place des deux axes du corps de l'embryon
- La subdivision de l'axe embryonnaire A/P en une série d'unités distinctes (Segments ou métamères)
- La subdivision de l'axe D/V en feuillet cellulaire externe intermédiaire et interne (Feuillets embryonnaires)
- La formation des différents organes, tissus, systèmes et appendices du corps.

2. Drosophile : organisme modèle

La drosophile a été utilisée comme organisme modèle pour la recherche depuis presque un siècle et c'est riche de ce passé que plusieurs milliers de scientifiques travaillent aujourd'hui sur de multiples aspects de sa biologie. Après Thomas Hunt Morgan en 1933, ce sont trois drosophilistes (E.B. Lewis, C. Nüsslein-Volhard et E. Wieschaus) qui furent récompensés du Prix Nobel de Médecine en 1995 pour leurs travaux sur le contrôle génétique du développement embryonnaire précoce de la drosophile, ce qui témoigne de l'importance de la drosophile comme organisme modèle. A l'origine, cet organisme était principalement étudié en génétique pour comprendre les règles de l'hérédité des caractères. Aujourd'hui, elle est essentiellement utilisée en biologie du développement, pour comprendre comment un organisme complexe se forme à partir d'un œuf fertilisé. Cet animal est facile et économique à élever en laboratoire. Son cycle de vie est court (10 jours) et une progéniture importante disponible à chaque génération permet aux scientifiques d'étudier facilement les étapes du développement embryonnaire, qui se fait en 24 heures, sur un échantillon important d'animaux (Figure 25).

De plus, un grand nombre d'outils sont disponibles pour étudier la biologie de la drosophile (chromosome balancier, transposons utilisés en génétique, séquençage complet du génome, transgénèse, ARN interférence et les chromosomes polytènes pour les cartographies chromosomiques). Aussi, le nombre global des gènes de drosophile est estimé entre 15000 et 20000 gènes, alors que chez l'homme est entre 20000 et 25000 gènes (nombre très rapproché). Parmi 289 gènes impliqués dans des pathologies sévères chez l'homme, 177 gènes sont retrouvés chez la drosophile.

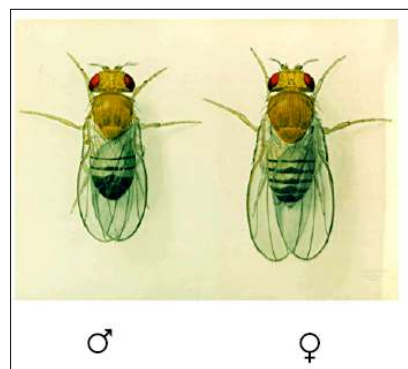


Figure 25: *Drosophila melanogaster* couple adulte
(<https://mantispassion.com/2017/09/21/les-drosophiles/>)

2.1 Taxinomie de la drosophile

Les drosophiles sont des animaux faisant partie du phylum des arthropodes et plus précisément de la classe des insectes. Elles appartiennent à l'ordre des diptères (ou mouches vraies) caractérisés par la présence d'haltères sur le troisième segment thoracique indispensables.

2.2 Cycle de reproduction de drosophile

Le cycle de vie de la mouche drosophile se divise en quatre phases durant lesquelles les individus prennent des morphologies très différentes : l'œuf (stade embryonnaire), la larve (stade larvaire), la pupa (stade pupal) et l'imago (stade adulte). La durée de ces stades est variable d'après la température de culture, et le passage de l'œuf dont la femelle est issue jusqu'à l'œuf qu'elle pond elle-même est de 8 jours à 29°C, de 10 jours à 25°C (optimum), et de 16 jours à 18°C (Figure 26).

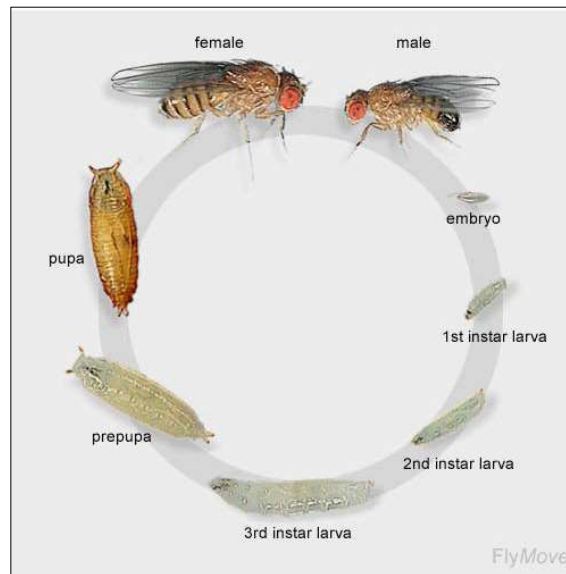


Figure 26: cycle de reproduction de drosophile
(<https://mantisspassion.com/2017/09/21/les-drosophiles/>)

2.2.1 Fécondation et ponte :

Les femelles peuvent être fécondées dès la 8^{ième} heure après leur émergence. En général, une femelle n'est fécondée qu'une seule fois dans sa vie et utilise les spermatozoïdes stockés dans sa spermathèque. La ponte commence dès le deuxième jour de la vie adulte. Une femelle peut pondre jusqu'à 3000 œufs au cours de sa vie, la moyenne se situe entre 1000 et 1500 œufs.

L'œuf de drosophile mesure environ 0.5 à 1mm avec une forme caractéristique qui permet de reconnaître les axes antéro-postérieur (A/P) et dorso-ventral (D/V) (Figure 27). Les divisions méiotiques sont achevées. Il contient un noyau haploïde et trois globules polaires qui se dégèrent rapidement. Le spermatozoïde féconde l'œuf en passant par un canal appelé le micropyle. L'œuf est fécondé dès la ponte en passant par une spermathèque (réservoir à spermatozoïdes).

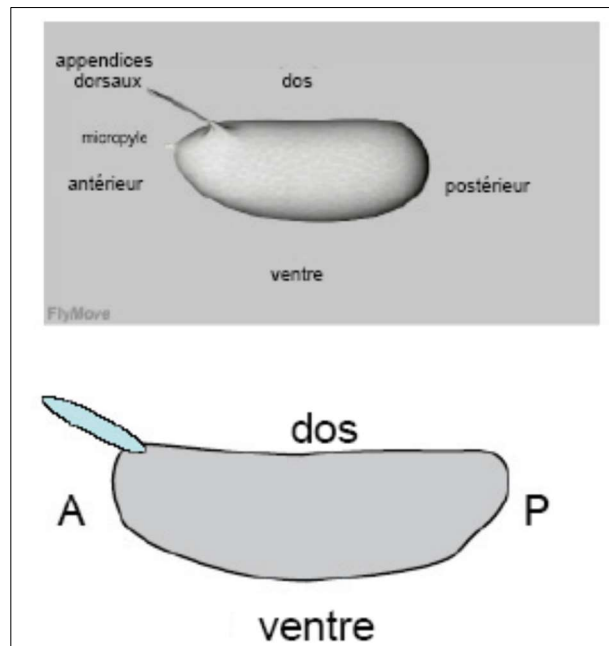


Figure 27: Structure d'un œuf de drosophile
(<https://mantispassion.com/2017/09/21/les-drosophiles/>)

- 2.2.2 Phase embryonnaire :** Les œufs sont blancs et d'une longueur de 0,5mm. La durée moyenne du stade embryonnaire est, à 25°C de 22 heures.
- 2.2.3 Phase larvaire :** Cette phase dure 4,5 jours à 25°C. Vers la fin de la phase larvaire on voit apparaître l'intestin et les corps gras en transparence à travers l'épiderme, qui tend à jaunir.
- 2.2.4 Phase pupale :** Le début du stade pupal est marqué par l'apparition subite de deux cornes antérieures. La durée moyenne de ce stade est de 3,5 jours à 25°C.
- 2.2.5 Phase adulte :** L'imago, émerge de la pupa vers le 10^{ème} jour du cycle avec un corps mou et peu pigmenté, et les ailes froissées. Cette phase dure environ 50 jours à 25°C.

3. Fondement de génétique de développement

Une des principales décisions développementales lors de la construction de l'embryon et afin que les cellules reçoivent leur propre identité pour établir le plan de construction du corps est la mise en place d'une information de position nécessaire à l'orientation et à la mise en place des deux principaux axes du corps de l'embryon : l'axe antéro-postérieur (tête – queue) et l'axe dorso-ventral (dos-ventre).

La formation du plan d'organisation peut s'expliquer par l'existence de gradients de morphogènes.

4. Cycle de développement de drosophile

Après la fusion des pronuclei, huit (8) divisions nucléaires rapides ont lieu à la cadence d'une division toutes les 8-9 minutes sans interphase. Chaque noyau est entouré de cytoplasme clair et de microtubules. Au cycle 7, les noyaux migrent vers la périphérie et ceux qui atteignent la surface. Les noyaux s'associent avec un réseau formé d'actine, de microtubules et de filaments intermédiaires. A la fin du cycle 14, trois heures après la fécondation, les cellules sont formées et l'embryon atteint le stade de blastoderme cellulaire. La gastrulation commence immédiatement. Il y a formation du mésoderme et de l'endoderme puis l'élongation et la rétraction de la bandelette germinale (Figure 28).

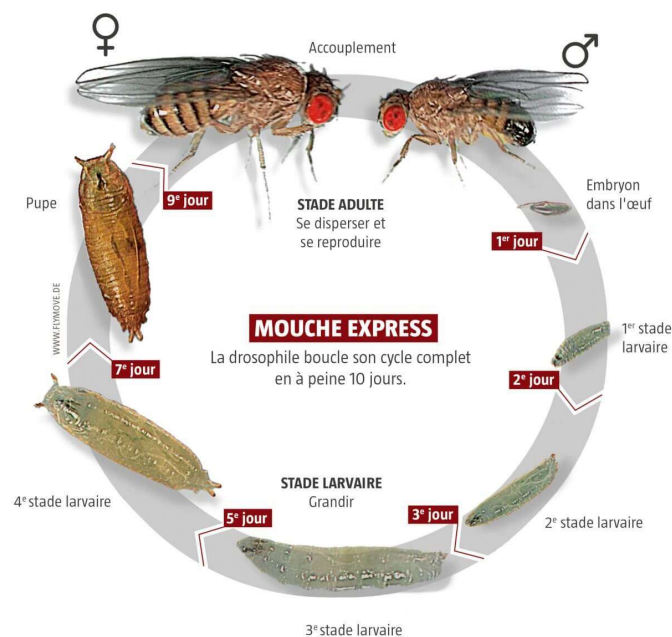


Figure 28: Cycle de reproduction de la Drosophile (<https://www.salamandre.org/article/mouche-star-laboratoires/>)

4.1 Blastoderme cellulaire :

Après la fécondation, le noyau du zygote se divise rapidement, jusqu'à former un syncytium. Au moment de la formation du blastoderme syncitial, les énergides (noyaux) se ségrègent en deux populations : la majeure partie du blastoderme et un petit groupe

de cellules qui s'isolent au pôle postérieur et se détachent du blastoderme. Ce sont les cellules polaires, au nombre d'une quarantaine environ, à l'origine des cellules germinales. Puis les noyaux migrent progressivement vers la surface de l'œuf et forment une couche unicellulaire autour des réserves (Figure 29). C'est le blastoderme cellulaire (2h30 à 3h après la fécondation). Chaque noyau est entouré de cytoplasme clair et de microtubules. Environ 140mn après la fécondation la cellularisation commence, ce processus dure environ 40mn et il est contrôlé par le cytosquelette.

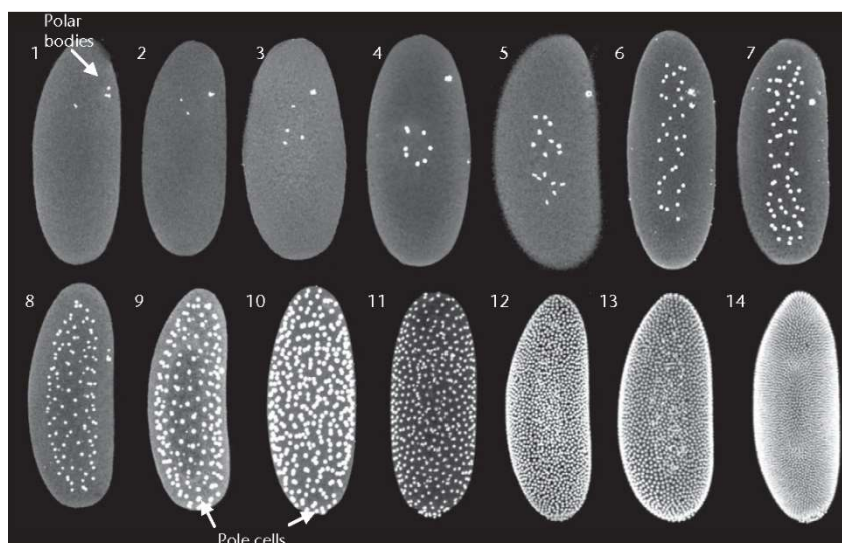


Figure 29: Clivage et cellularisation, formation du blastoderme cellulaire (Kotadia et al., 2010)

4.2 Gastrulation

La gastrulation commence immédiatement après le blastoderme cellulaire. Il y a formation du mésoderme et de l'endoderme puis l'élongation et rétraction de la bandelette germinale.

A la suite du stade blastoderme, l'embryon se sépare en cinq territoires : le mésoderme, l'endoderme ventral, l'ectoderme ventral, la membrane externe de l'œuf, et l'endoderme aux extrémités. Alors se déroulent les phénomènes de gastrulation par des mouvements d'invagination, le mésoderme et l'endoderme se retrouvent à l'intérieur (ils seront à l'origine des organes et des tissus internes de la mouche), l'ectoderme, ventral et dorsal, enveloppant la larve (Figure 30).

Plusieurs types de mouvements cellulaires sont mis en place pendant la gastrulation comme l'invagination, l'extension convergente, l'épibolie et les repliements cellulaires. Ces mouvements cellulaires sont reproduits lors de la gastrulation de tous les animaux, mais du fait de la simplicité de l'embryon de drosophile, ils sont particulièrement faciles à suivre dans cet organisme. De plus, il est possible de pratiquer des mutations dans les gènes impliqués dans le processus de gastrulation, puis des analyses génétiques.

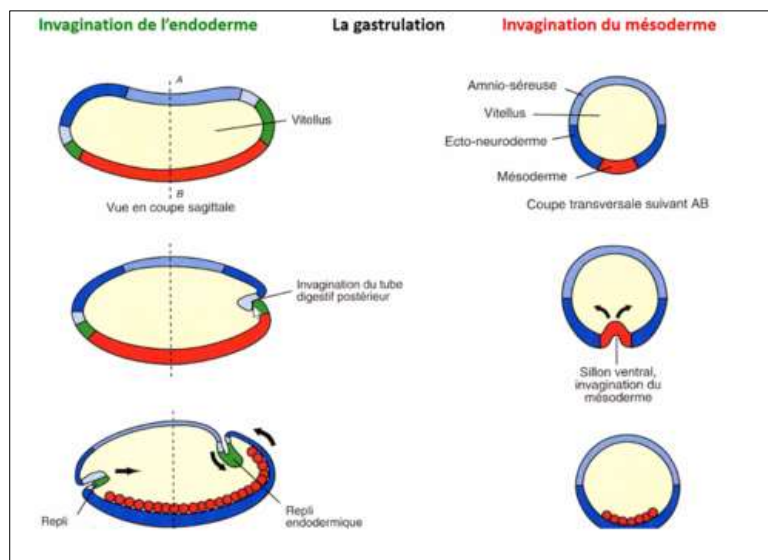


Figure 30: Mouvement de gastrulation (<https://quizlet.com/fr/550159783/chapitre-6-le-developpement-embryonnaire-chez-la-drosophile-flash-cards/>)

4.3 Bandelette germinative

La bandelette germinative est composée des cellules neuro-ectodermiques dans la partie postérieure du sillon céphalique. Au cours de son extension, la bandelette germinative va s'allonger le long de l'axe antéro-postérieur, doubler sa longueur et diminuer sa largeur de deux fois. Ce phénomène commence 3 heures après la fécondation et comporte deux phases : une première phase rapide qui dure 30 minutes au bout desquelles la bandelette germinative s'est allongée sur 61% de la longueur de l'embryon et une phase lente où elle continue son élongation jusqu'à 73% de la longueur de l'embryon pendant 40 à 70 minutes. Au cours de cette période, le tube mésodermique précédemment formé suit l'élongation de la bandelette germinative (Figure 31).

On distingue deux types de cellules impliquées dans l'extension de la bandelette germinative, les cellules épidermiques qui commencent à se diviser avant ce processus et arrêtent à la fin de la phase rapide et les cellules neurogéniques qui ne se divisent pas, mais s'agrandissent. Seulement, ni la division des cellules ectodermiques, ni l'allongement des cellules neurogéniques n'expliquent complètement une telle extension. Il apparaît que la phase rapide de l'extension de la bandelette germinative est amorcée par une poussée des cellules dorsales de l'embryon sur le sillon céphalique, puis le phénomène d'intercalation cellulaire prend le relais. Au cours de ce processus, les cellules neuro-ectodermiques les plus dorsales vont migrer entre leurs voisines ventrales (Irvine and Wieschaus 1994).

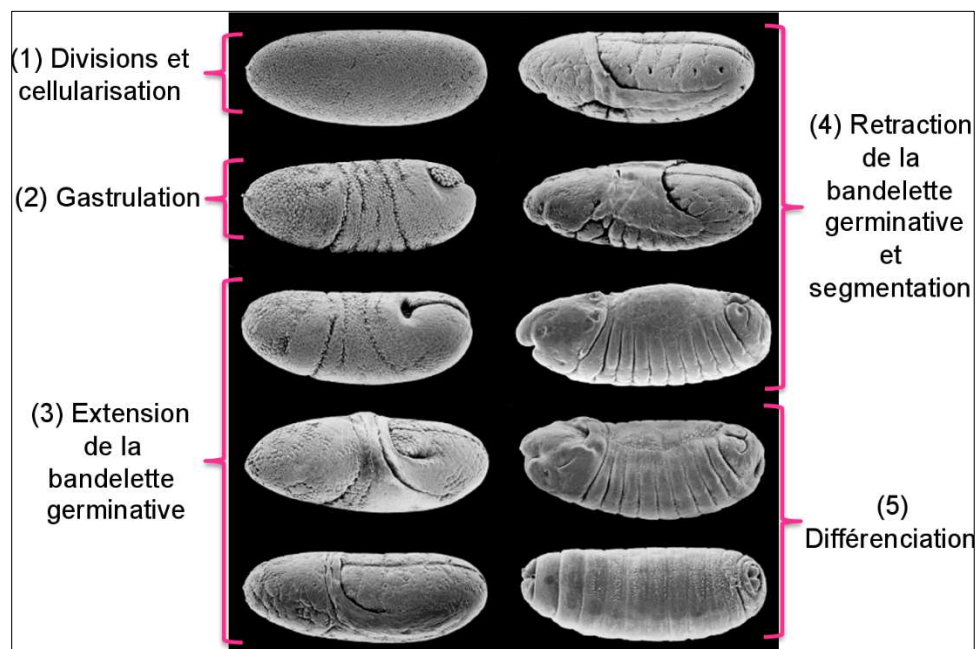


Figure 31: Étapes de formation de bandelette germinative chez drosophile (Roque., 2014)

Enfin, le rôle de l'extension de la bandelette germinative chez la drosophile n'est pas encore bien défini. Il pourrait s'agir d'augmenter rapidement le nombre de cellules le long de l'axe antéro-postérieur sans division cellulaire ou d'acheminer rapidement les cellules à une nouvelle localisation pour leur assigner un devenir cellulaire plus précis.

4.4 De la larve à l'adulte : la métamorphose

Dès le stade blastula, on peut dessiner des territoires présomptifs puisque les cellules souches des disques imaginaux sont déjà déterminés, et on pourra donc savoir quel territoire donnera quel type d'organe. Ainsi, les disques imaginaux destinés à devenir les appendices se forment à partir de l'ectoderme, au niveau des trois premiers segments thoraciques. On trouve alors le mésoderme dans la partie la plus ventrale, puis le neuroderme, l'ectoderme dorsal puis une fine membrane côté dorsal.

L'ectoderme va former une sorte de sac aplati constitué d'une seule couche de cellules accrochées intérieurement à l'ectoderme de la larve sous l'influence de l'ecdysone (hormone de mue). Au moment de la métamorphose, ces disques imaginaux s'invaginent (se retournent comme des doigts de gants) pour prendre leur aspect apindiculaire définitif.

On distingue dix-neuf disques dont trois paires pour la tête, trois paires thoraciques-dorsales qui donnent les pro, méso, méta thorax avec les appendices correspondant (paire d'ailes et d'élytres), trois paires thoraciques-ventrales qui donneront les trois paires de pattes, et un disque génital impair.

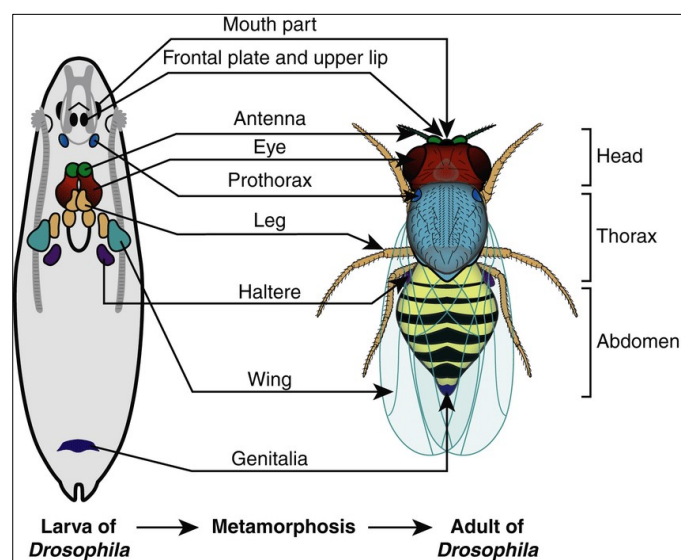


Figure 32: La métamorphose chez la drosophile (DiFrisco et al., 2020)

4.5 Segmentation

C'est la génération d'unités métamériques successives le long d'un axe embryonnaire, est un processus qui a été utilisé de façon répétée au cours de l'évolution et a joué un rôle important dans la complexification des organismes.

Après la fécondation qui est intérieure (dans la spermathèque), le développement commence par une série de huit divisions nucléaires synchrones qui se succèdent de huit à dix minutes sans formation de cellules individualisées. Ces noyaux constituent des énérgides. Les 256 noyaux (ou énérgides) formés vont migrer vers la périphérie de l'ooplaste (cytoplasme de l'oocyte) pour former le blastoderme syncytial (tissu plurinucléé).

Il s'opère ensuite l'organisation en unités de bases répétées : les métamères. A ce stade chaque segment est constitué de deux types de cellules, les premières formeront les tissus de la larve, et les deuxièmes ne se différencieront qu'au moment de la métamorphose, pour former les tissus de l'adulte. La larve comporte comme la forme adulte 14 segments : 3 céphaliques, 3 thoraciques et 8 abdominaux, chacun portera les appendices qui lui sont particulières. Les régions apicales de l'animal, l'Acron à l'antérieur et le Telson en arrière ne sont pas des métamères

Chapitre III : Etablissement des axes embryonnaires

1. Mise en place des polarités de l'embryon

Les polarités établies dans l'ovocyte sont à la base des axes de l'embryon et de l'adulte. Ces polarités s'établissent au cours de l'ovogenèse : elles résultent de l'activité de plusieurs gènes qui s'expriment dans l'ovocyte, dans les cellules nourricières ou dans les cellules folliculeuses. Ils sont le résultat de l'activité de plusieurs gènes qui s'expriment dans l'ovocyte, pour la plupart des gènes maternels ou à effet maternels.

Les études des mutants ont permis d'identifier de nombreux transcrits et de préciser leur rôle. Chaque mutation a donné son nom au gène, à l'ARNm et à la protéine régulatrice correspondants.

2. Etablissement de l'axe antéro-postérieur

Parmi les ARNm maternels transportés des cellules nourricières vers l'ovocyte et qui sont essentiels dans l'établissement des polarités, nous retiendrons les transcrits *bicoid* localisés antérieurement, *nanos* dans la région postérieure ainsi qu'*hunchback* et *caudal* uniformément répartis dans le cytoplasme de l'ovocyte mais dont la traduction sera modulée en relation avec les polarités au cours du développement.

Beaucoup de ces ARN-m codent pour des facteurs de transcription. Ces protéines sont traduites dès la fécondation et pénètrent dans le noyau du zygote, puis dans les noyaux de division. Certaines d'entre elles peuvent se lier à l'ADN par une séquence très conservée au cours de l'évolution, l'homéodomaine, au voisinage des gènes qu'elles contrôlent en les activant ou en les inhibant.

2.1 Etablissement du pôle antérieur

Des larves d'animaux atteints d'une mutation appelée *bicoid*, létale à l'état homozygote, ne développent ni tête ni thorax, mais deux abdomens affrontés. Partant de cette mutation, le gène déficient a été identifié et appelé gène *bicoid*. C'est un gène qui a été cloné, il code pour une protéine à homéodomaine qui est un facteur de transcription.

2.1.1 Localisation de l'ARNm de *bicoïd*

Chez les formes sauvages, le gène est transcrit dans les cellules nourricières et l'ARNm *bicoïd* migre dans l'ovocyte où il se localise au pôle céphalique. Les ARN-m *bicoïd* sont redistribués dans la région antérieure de l'ovocyte à la suite de leur liaison par leur région 3'UTR avec la dynéine (Figure 33), moteur moléculaire se déplaçant vers les extrémités (-) des microtubules localisés du côté antérieur de l'ovocyte.

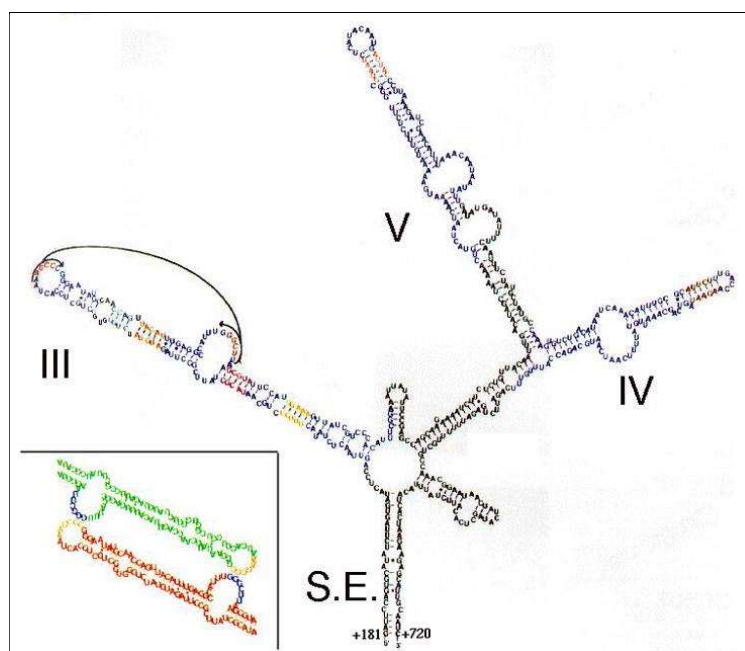


Figure 33: Structure secondaire de l'extrémité 3' UTR de l'ARNm *bicoïd* (Zamore et Lehmann., 1996)

Injecté au pôle antérieur d'un ovocyte de mutant *bicoïd*, ce transcrit restaure la capacité de différencier les structures de la tête et du thorax (Figure 34). A l'inverse, la ponction de cytoplasme dans la région céphalique de l'ovocyte normal réduit les formations de tête et de thorax. La protéine Bicoïd est responsable de l'inhibition de la traduction de l'ARNm *caudal* et active dans le noyau zygotique la transcription du gène *hunchback*.

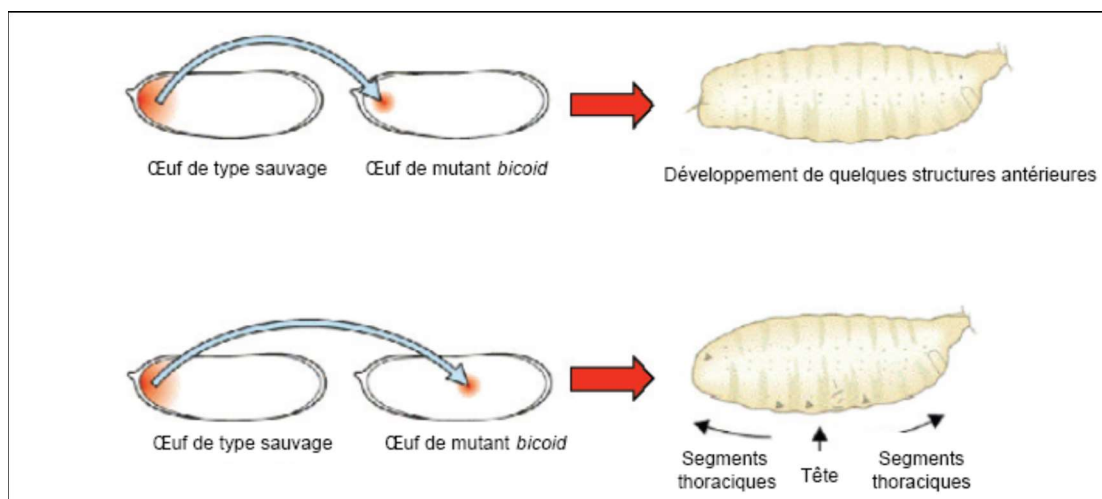


Figure 34: Expérience d'injection du cytoplasme antérieur dans un mutant en gène *bicoid* (<https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-3-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-expression-des-genes-maternels-618379007>)

2.1.2 Localisation de la protéine Bicoid

L'ARNm *bicoid* est traduit, juste après la fécondation, en protéine Bicoid qui se répartit selon un gradient décroissant antéro-postérieur sur les deux tiers antérieurs du cytoplasme (Figure 35). Elle a une demi-vie très courte qui ne dépasse pas 30mn.

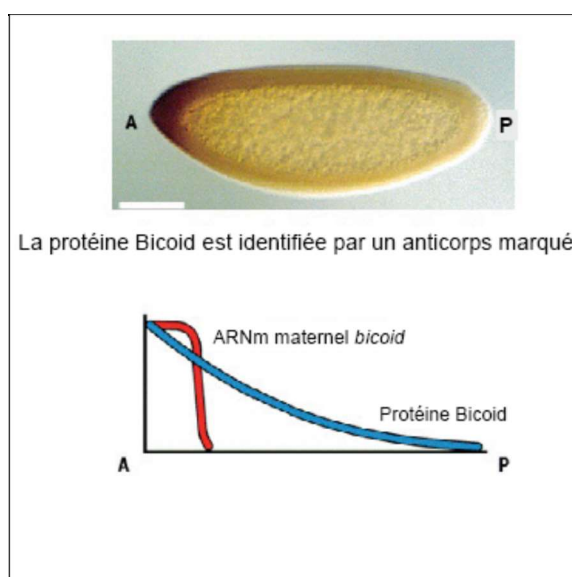


Figure 35: Localisation de la protéine Bicoid chez la drosophile (<https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-3-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-expression-des-genes-maternels-618379007>)

2.1.3 Fonction de la protéine Bicoid

La transcription de différents gènes zygotiques est activée en fonction de la concentration en protéine Bicoid, c'est par exemple le cas du gène *hunchback* (*hb*).

Cette protéine se lie à des sites régulateurs au niveau du promoteur du gène *hunchback*, l'activité de ce gène est déterminée par une valeur seuil de la protéine Bicoid (BCD), l'activation est possible au-dessus d'un certain seuil de concentration de la protéine (environ 55% de la longueur de l'œuf). En effet, il a été démontré que si la quantité de la protéine (BCD) est multipliée par six, alors la valeur seuil de (BCD) est déplacée vers la région postérieure alors l'expression de *hunchback* s'étend vers la région postérieure (Figure 36).

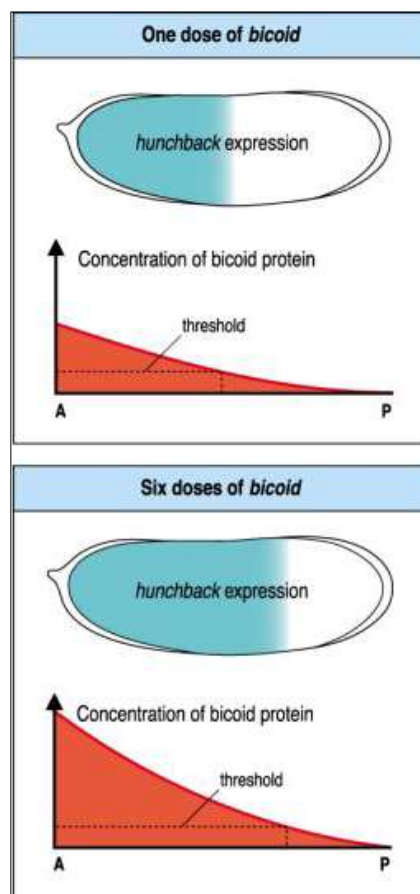


Figure 36: Rôle de la protéine Bicoid

(<https://bastiani.biology.utah.edu/courses/3230/db%20lecture/lectures/a9FlyMaternal.html>)

2.2 Etablissement du pôle postérieur

La polarité postérieure s'établit de façon plus complexe. On connaît en effet 9 gènes à effet maternel, c'est-à-dire transcrits dès l'ovocyte, dont la défection peut être responsable de l'absence d'abdomen. Les mutants de ces gènes sont petits (d'où leur nom : *nanos*, *pumilo*, *oskar*...etc), sept mutants présentent une absence de segments

abdominaux et de cellules polaires, seuls les mutants de *nanos* et de *pumilio* ont simplement une absence de segments abdominaux.

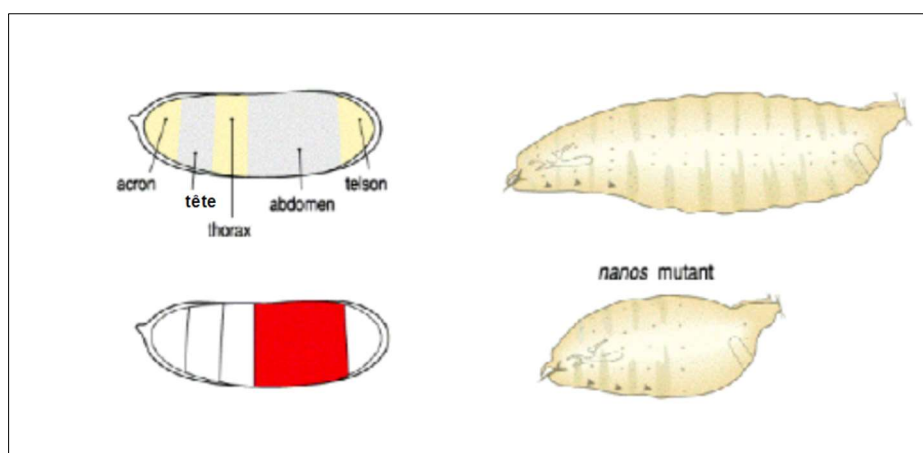


Figure 37: Formation du pôle postérieur chez la drosophile (Darbo, Elodie., 2011)

Le centre organisateur du développement de l'abdomen est localisé dans le cytoplasme postérieur de l'ovocyte : si du cytoplasme de cette région est prélevé dans un ovocyte normal et injecté dans la région postérieure d'un embryon déficient, il peut rétablir un développement normal.

2.2.1 Localisation de l'ARNm de *nanos*

L'ARNm *nanos* synthétisé dans les cellules nourricières est finalement transporté au pôle postérieur de l'ovocyte. Les transcrits *nanos* sont quant à eux concentrés dans la région postérieure par suite de leur liaison avec la protéine Oskar dont la localisation dans cette région est due au fait que les ARNm *oskar*, en étant liés à la kinésine I qui se déplace vers les extrémités (+) des microtubules, se retrouvent concentrés dans la région postérieure (Figure 38). Dans l'ovocyte la distribution de l'ARNm *nanos* est homogène, puis 96% des transcrits *nanos* sont dégradés par la protéine Smaug après la fécondation, à l'exception des ARNm *nanos* postérieurs qui sont associés à Oskar.

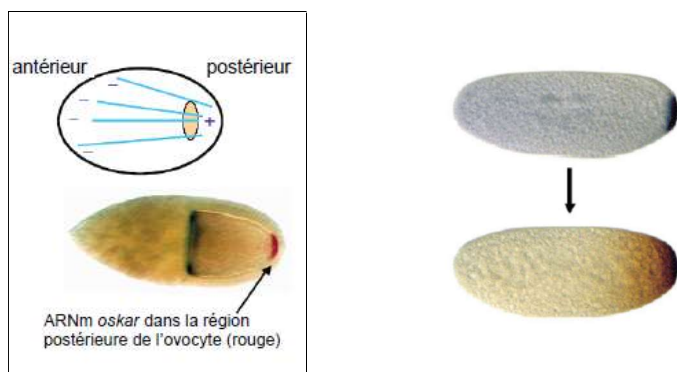


Figure 38: Localisation de l'ARNm *nanos* (<https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-3-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-expression-des-genes-maternels-618379007>)

2.2.2 Localisation de la protéine Nanos

L'ARNm *nanos* est traduit juste après la fécondation en protéine Nanos, régulatrice d'un développement normal, qui se répartit suivant un gradient décroissant du pôle postérieur vers la région antérieure de l'ovocyte. La protéine Nanos, à la différence de Bicoïd, n'est pas un facteur de transcription et joue un rôle de répresseur pour la traduction des ARNm *hunchback*.

2.2.3 Rôle de la protéine Nanos

La double expression régionalisée des gènes maternel, *bicoïd* et *nanos*, entraîne la distribution de protéine Hunchback selon un gradient antéro-postérieur. Concentré dans la région antérieure, ce facteur de transcription y réprime les gènes spécifiques de la région abdominale (Figure 39).

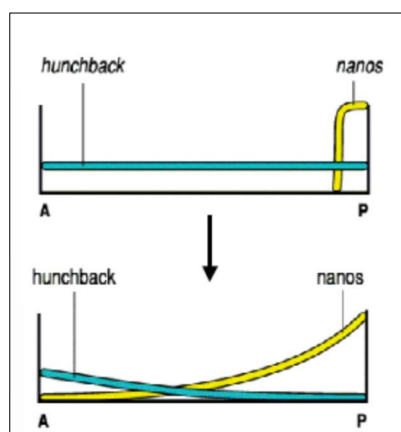


Figure 39: Distribution des ARNm et protéine Nanos et Hunchback (<https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-3-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-expression-des-genes-maternels-618379007>)

La répression de l'ARNm *hunchback* dépend de la protéine Pumilio mais aussi de l'activité de la protéine Nanos. En effet Nanos est nécessaire à la régulation normale de l'ARNm *hunchback* maternel (Figure 40). La protéine Pumilio est uniformément répartie dans tout l'embryon avant fécondation, l'ARNm *hunchback* possède dans sa séquence transcrite non traduite (TNT) une région NRE (Nanos Response Element) qui fixe cette protéine Pumilio. Dans la région antérieure de l'embryon, on retrouve uniquement la protéine Pumilio qui se fixe sur la séquence NRE, cette simple fixation provoque une poly-adénylation de la queue poly A de l'ARNm *hunchback* qui active sa traduction dans cette zone. Alors que dans la région postérieure de l'embryon on retrouve en plus de Pumilio la protéine Nanos, la double fixation des deux protéines sur la séquence NRE provoque une dés-adénylation de la queue poly A qui induit la dégradation de l'ARNm *hunchback* et ainsi l'inhibition de sa traduction.

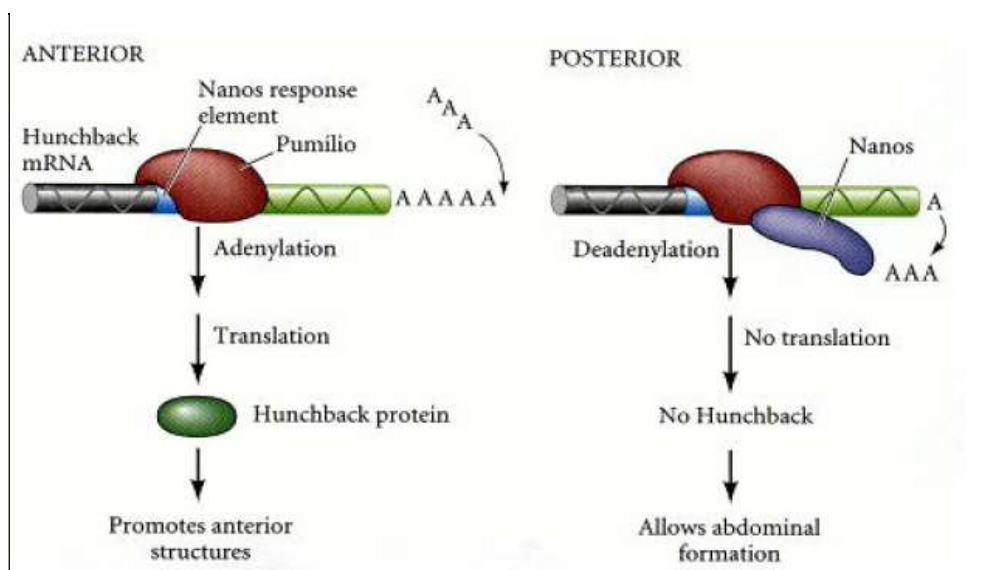


Figure 40: Régulation de la traduction de l'ARNm *hunchback* par la protéine nanos (Tautz 1988)

2.2.4 Protéine Caudal (cad)

Caudal est un morphogène postérieur impliqué dans la formation de l'axe antéro-postérieur lors du développement embryonnaire. Bcd a également un rôle de répresseur de la traduction avec le même homéodomaine avec lequel il se fixe sur l'ADN et contrôle la transcription (Figure 41).

Sa principale cible est l'ARNm de caudal qui est uniformément réparti dans le cytoplasme. L'homéodomaine de Bicoid se fixe sur une séquence du 3'UTR de l'ARNm de *caudal* et empêche la fixation correcte du complexe d'initiation de la traduction. Cette fonction nécessite l'activité de Bin3, une ARN méthyltransférase qui méthyle l'ARN 7SK qui est impliqué dans le complexe répresseur de la traduction initié par Bicoid. Ainsi, malgré la présence d'ARNm *caudal* uniforme dans l'embryon, y compris dans la partie antérieure, la protéine Caudal ne sera présente que dans la partie postérieure. Caudal est nécessaire à la formation de l'abdomen.

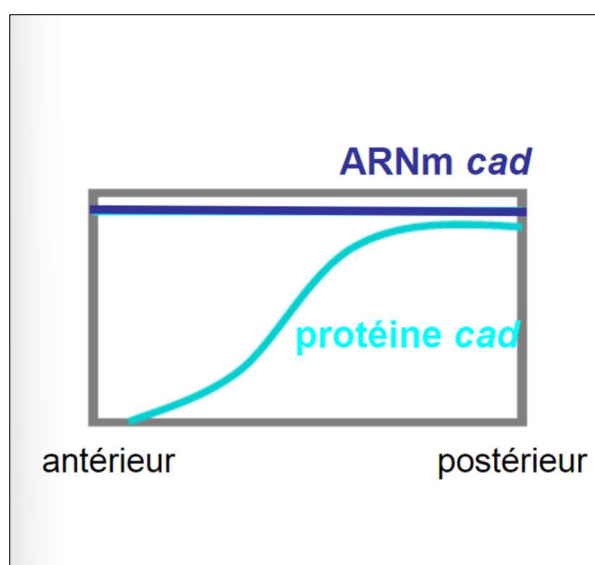


Figure 41: Distribution de l'ARNm et protéine Caudal dans un embryon de Drosophile (<https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-3-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-expression-des-genes-maternels-618379007>)

2.3 Les principaux déterminants maternels de la polarité antéro-postérieure chez la drosophile

Chez la drosophile, des gradients de protéines établis maternellement tels que celui du facteur de transcription et de traduction *Bicoid* (Bcd) et du régulateur de la traduction Nanos définissent les régions antérieures et postérieures, et activent une cascade complexe de régulation des gènes qui conduisent finalement à la segmentation et à la spécification régionale de l'axe antéro-postérieur (AP). Une fois le gradient formé, la protéine Bcd, un facteur de transcription à homéodomaine, se lie à des motifs de séquence d'ADN spécifiques et active de manière différentielle les gènes le long de l'axe AP.

Bicoid peut affecter l'expression de gènes cibles, bien sûr dans les régions antérieures où il est le plus concentré mais aussi dans les régions postérieures, où le gradient est plus diffus, en formant des centres locaux dans les noyaux qui sont suffisamment concentrés pour rendre possible la liaison du Bicoid aux enhanceurs. De plus, malgré le court laps de temps pendant lequel les molécules Bicoid sont liées à l'ADN, cet apport se traduit par des régulations d'expression génique précises et rapides, à l'échelle de quelques minutes (Figure 42).

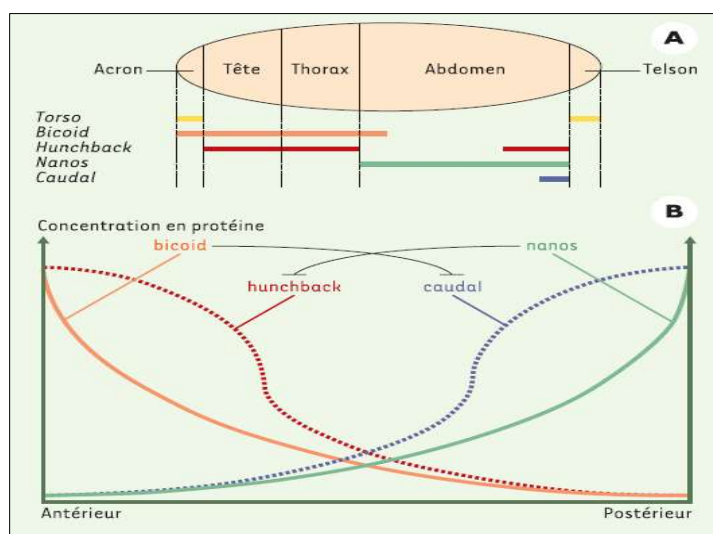


Figure 42: Les principaux déterminants maternels de la polarité antéro-postérieure chez la drosophile. (Desponds et al., 2020)

3. Groupe de gènes terminaux

Les deux extrémités de l'embryon sont spécifiées par des signaux sécrétés par les cellules folliculaires et perçus par l'ovocyte. Le récepteur Torso est exprimé par l'ovocyte, il est uniformément présent dans la membrane plasmique, de même le ligand *Trunk* est présent dans tout l'espace périvitellin. L'enzyme Torsolike sécrétée par les cellules terminales est localisée, elle active le ligand aux deux extrémités (Figure 43).

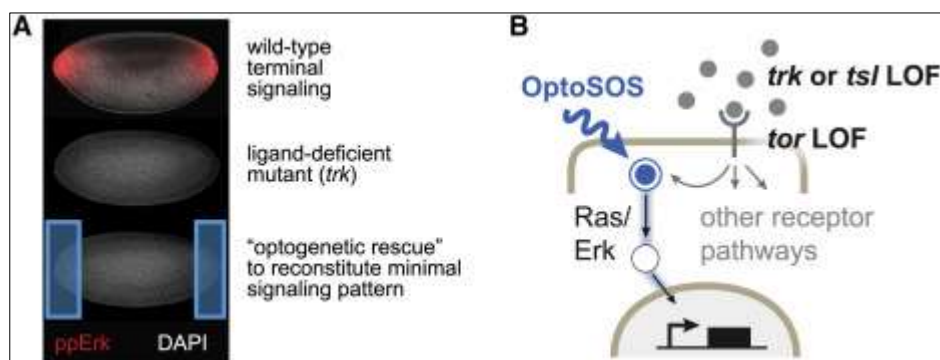


Figure 43: Formation des structures terminales (Heath et al., 2020)

4. Etablissement de l'axe dorso-ventral

Chez la drosophile et d'autres arthropodes, l'établissement des axes A-P et D-V se produit graduellement pendant l'ovogenèse. Une femelle drosophile a deux ovaires composés d'environ 18 ovarioles, chacun pouvant être considéré comme une chaîne de production d'œufs. Les premières étapes de l'ovogenèse ont lieu dans une structure spécialisée située à l'avant de l'ovariole appelée le germarium (Figure 44). Le germarium est lui-même polarisé selon l'axe antéro-postérieur et est divisé en 4 régions fonctionnelles.

L'ovogenèse débute dans la région 1 du germarium, par la division asymétrique d'une cellule-souche pour donner une nouvelle cellule-souche et un cystoblaste. Ce cystoblaste se divise ensuite quatre fois de manière incomplète pour donner un cyste de 16 cellules germinales toutes reliées entre elles par des ponts cytoplasmiques. Ainsi, en fin de région 1, un cyste symétrique est produit contenant 16 cellules germinales, dont deux cellules avec 4 ponts cytoplasmiques, deux cellules avec 3, quatre cellules avec 2 et huit cellules avec 1. Les deux cellules ayant quatre ponts cytoplasmiques sont appelées pro-ovocytes car l'une d'elles deviendra toujours l'ovocyte et que toutes les deux commencent à se différencier en tant qu'ovocyte (Figure 44). Les ARNm maternels sont synthétisés par les cellules nourricières et activement transportés à travers les ponts cytoplasmiques jusqu'à l'ovocyte.

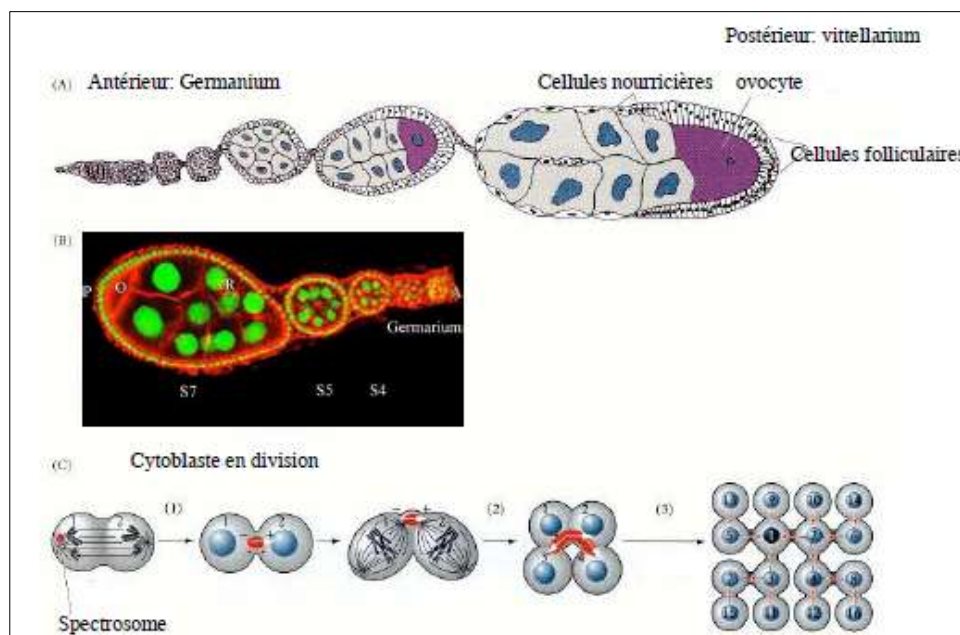


Figure 44: Ovogenèse de la drosophile

(<https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/8893/ovariole>)

Comme pour la mise en place de la polarité antéro-postérieure, la polarisation dorso-ventrale implique des signalisations réciproques entre l'ovocyte et les cellules folliculaires.

La stratégie pour comprendre la formation de ce plan de développement consiste à rechercher des mutants présentant des altérations de la cuticule chez la larve. Ces modifications traduisent en fait une modification précoce de la carte des territoires présomptifs. Les mutants ont souvent des défauts à la fois de l'axe antéro-postérieure et dorso-ventrale, ces axes se développent de manière coordonnée.

4.1 Mise en place du réseau de microtubules

L'ovocyte émet un signal inductif qui est perçu par les cellules folliculaires qui sont les plus proches (les cellules à l'extrémité postérieure), ce signal comprend le ligand Gurken ($TGF\alpha$) (GRK) qui se fixe sur son récepteur Torpedo qui est ubiquitaires pour toutes les cellules folliculaires. Les cellules folliculaires qui ont perçu le signal, se différencient en cellules folliculaires terminales et répondent par un signal inconnu qui active la formation des microtubules polarisés réorganisés en extrémité chargée positivement (+) en région postérieure et négativement (-) en région antérieure.

4.2 Transport et localisation des informations

Les ARNm de *bicoid*, *nanos* et *oskar* sont synthétisés par les cellules nourricières et seront ensuite transportés vers l'ovocyte, dans ce dernier l'ARNm *bicoid* utilise le moteur Dynein – pour se localiser au pôle antérieur chargé négativement (-) et ainsi se fixer à l'aide de son extrémité 3'UTR au cytosquelette, alors que l'ARNm *oskar* utilise le moteur Kinésine + pour se localiser au pôle postérieur chargé positivement (+) et une fois traduit sur place il fixe l'ARNm *nanos* et se fixe à l'aide de son extrémité 3'UTR au cytosquelette, ainsi les ARNm *bicoid* et *nanos* seront localisés aux extrémités antérieure et postérieure respectivement pour la mise en place de l'axe antéro-postérieur (Figure 45).

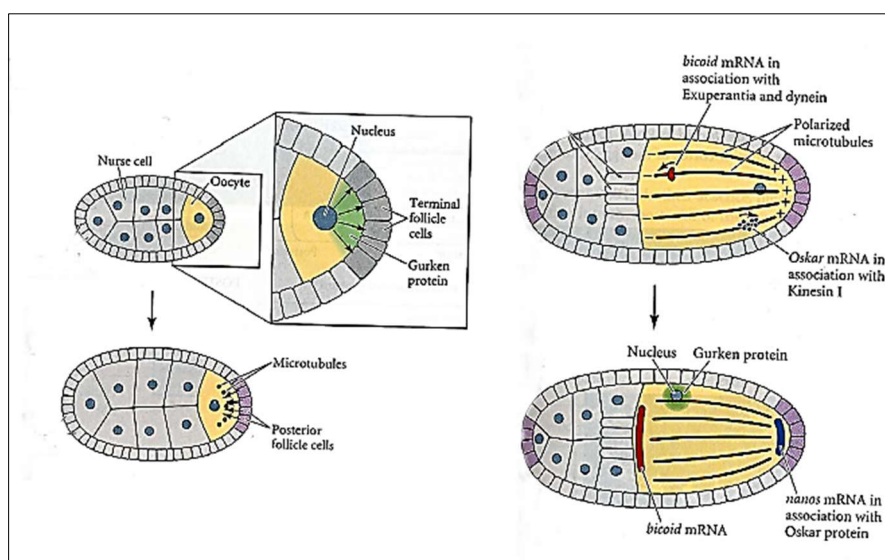


Figure 45: Localisation des ARNm maternel chez la drosophile (Developmental biology., 2014)

4.3 Migration du noyau de l'ovocyte

Le noyau de l'ovocyte se déplace le long des microtubules, de l'arrière vers le bord de la partie antérieure en longeant les cellules folliculaires. Le signal dorsalisant est constitué par le produit du gène *gurken*, qui est sécrétée tout au long de ce déplacement, il spécifie les cellules folliculaires adjacentes en cellules folliculaires dorsales suite à sa fixation à son récepteur Torpedo, *gurken* est transcrit par l'ovocyte et traduit localement, il ne diffuse que sur une courte distance, ainsi il ne peut atteindre que les cellules folliculaires à proximité du noyau ovocytaire.

4.4 Mise en place de l'axe dorso-ventral

Le pôle dorsal ou l'extrémité dorsale est mis en place pendant l'ovogénèse chez la drosophile avant fécondation par la spécification des cellules folliculaires suite au signal Gurken – Torpedo, alors que le pôle ventral est activé après fécondation suite à la spécification des cellules folliculaires de la région ventrale qui vont émettre un signal activant la ventralisation. Toutes les cellules folliculaires peuvent envoyer ce signal, mais Gurken inhibe celles qui sont dorsales (inactivation de Pipe).

Dans l'espace périvitellin ventral une cascade de protéases sera activée après fécondation par la synthèse de la protéine Pipe par les cellules folliculaires ventrales, cette cascade provoque le clivage de Spätzle (protéine ligand activée ventralement) qui fixe son récepteur Toll présent de manière ubiquitaire sur la membrane de l'ovocyte (Figure 46).

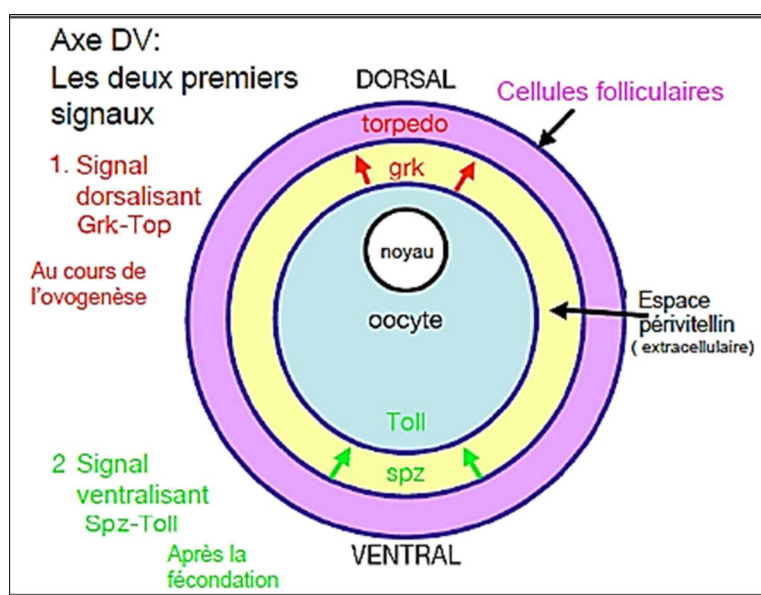


Figure 46: Mise en place de l'axe dorso-ventral (Developmental biology., 2014)

4.4.1 Signal ventralisant

Après la fécondation les cellules folliculaires ventrales synthétisent la protéine Pipe qui sera sécrétée dans l'espace périvitellin. Cette protéine active une cascade de protéases dans cette espace, en effet elle digère une première protéine Snake qui une fois activée digère à son tour la protéine Easter qui active la protéine Spätzle, et elle se

fixe ainsi sur son récepteur Toll pour activer la protéine Pelle. Cette dernière hydrolyse le complexe Cactus – Dorsal et libère ainsi la protéine Dorsal qui peut pénétrer à l'intérieur du noyau et activer ainsi les gènes cibles (Figure 47).

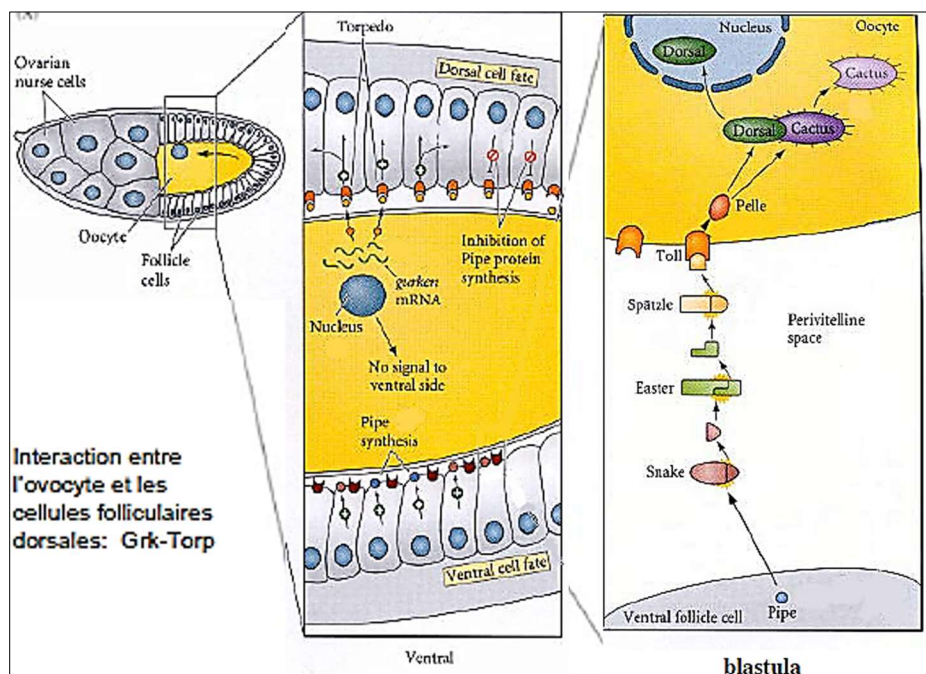


Figure 47: Signal de développement ventral de drosophile (Developmental biology., 2014)

L'entrée dans le noyau de la protéine Dorsal dépend de la proximité de Toll activé qui provoque la dissociation de Dorsal d'un complexe formé avec une autre protéine (Cactus). Les mutants de cactus sont ventralisant parce que le rôle normal de Cactus est d'inhiber l'action de Dorsal, si bien qu'en l'absence de la protéine Cactus, Dorsal peut entrer dans les noyaux dans l'ensemble de l'embryon et lui conférer un caractère ventral. Il s'établi ainsi un gradient unique de localisation nucléaire de la protéine Dorsal (Figure 48).

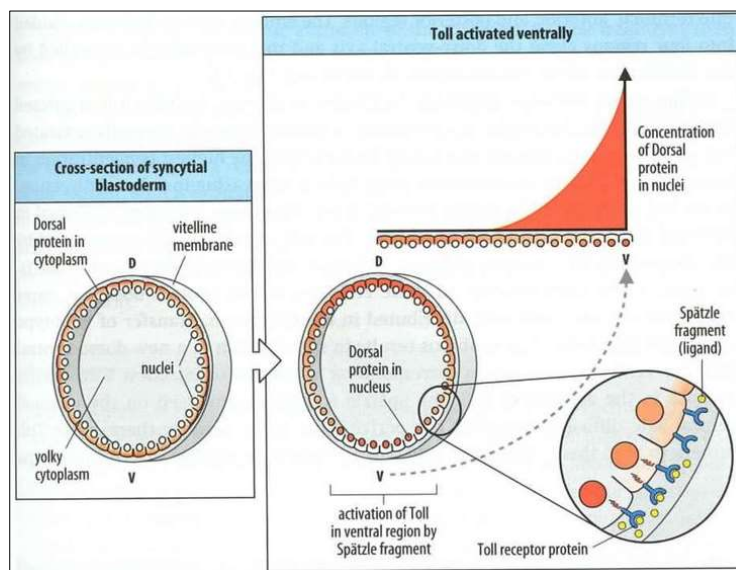


Figure 48: Expression de la protéine Dorsal chez la drosophile (Developmental biology., 2014)

4.4.2 Rôle de la protéine Dorsal

Le gradient de la protéine Dorsal est établi même en présence de membrane cellulaire puisque des relais moléculaires assurés par plusieurs protéines transmettent l'information d'un compartiment à un autre.

La protéine Dorsal (DL) est un facteur de transcription à trois actions : Concentration de DL dans le noyau supérieure au premier seuil activation de deux gènes A, B ; Concentration de DL dans le noyau inférieure à un deuxième seuil inhibition de deux gènes C, D ; et Concentration de DL dans le noyau définit un gradient chaque paire de gènes A, B et C, D s'exprime d'un côté ou de l'autre de l'embryon.

Au stade de Blastoderme syncytial, la protéine Dorsal est dans le noyau de la face ventrale où sa concentration est maximale, puis elle décroît dans les noyaux du blastoderme latéral et devient nulle dans ceux de la région dorsale du blastoderme.

Les tissus primordiaux (ecto, méso et endoderme) vont se mettre en place à la gastrulation. Ils sont spécifiés au stade blastula, la différenciation commence dans le syncytium, sous l'influence de la protéine Dorsal. Le gradient de Dorsal définit quatre grandes régions : l'amnioséreuse (membrane extra embryonnaire), l'ectoderme dorsal

(épiderme), l'ectoderme ventral (neuroectoderme) et le mésoderme (organes internes) (Figure 49).

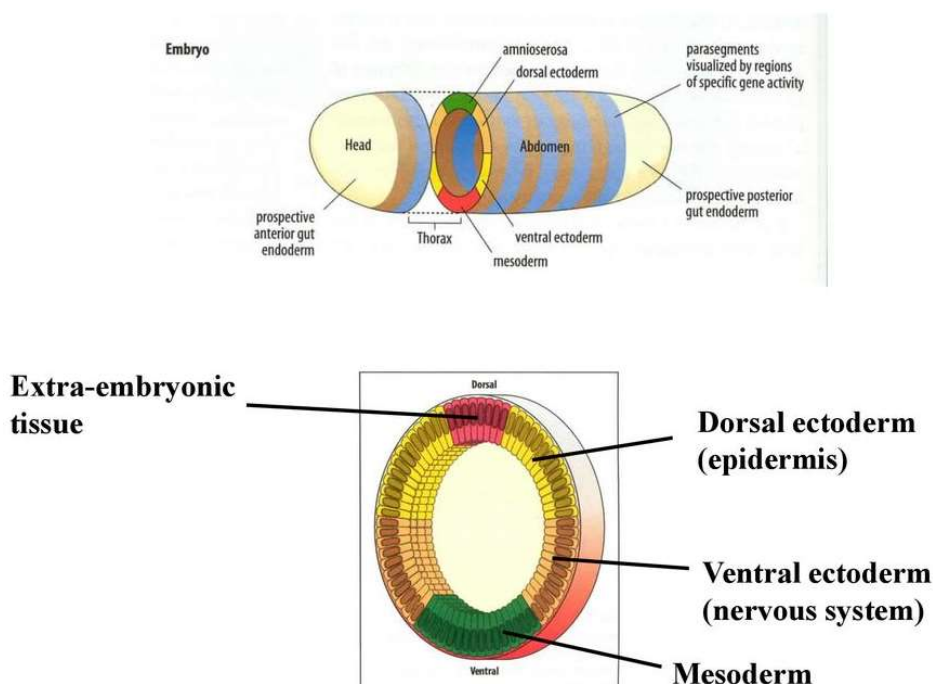


Figure 49: Formation des feuillets embryonnaires chez la drosophile (<https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-1-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-les-etapes-du-developpement-embryonnaire-617853218>)

4.4.3 Mécanismes d'action différentielle de Dorsal

La plus forte concentration de la protéine Dorsal induit les gènes embryonnaires de ventralisation *twist* et *snail*, spécifiques du mésoderme. De plus faibles concentrations induisent *rhomboid* et le neuroectoderme (système nerveux). La protéine Snail inhibe l'expression ventrale de *rhomboid*. Plus dorsalement, on trouve exprimés les gènes *decapentaplegic* et *tolloid*, spécifiques de l'ectoderme dorsal, et *zerknülit*, spécifique de l'amnioséreuse (membrane extra-embryonnaire). L'expression de ces gènes est inhibée par la protéine Dorsal. C'est la concentration de Dorsal qui détermine le destin des cellules : c'est un morphogène d'origine maternelle réglant l'expression des gènes embryonnaires.

En amont de *twist*, l'ADN a un site de basse affinité pour Dorsal. La fixation sur ce site active la transcription. En amont de *decapentaplegic*, il y a un site de haute affinité pour le même facteur. La fixation sur ce site inhibe l'expression. Si le gradient

de Dorsal est modifié (à droite), *decapentaplegic* n'est pas exprimé et le mutant n'a pas ses éléments dorsaux (Figure 50).

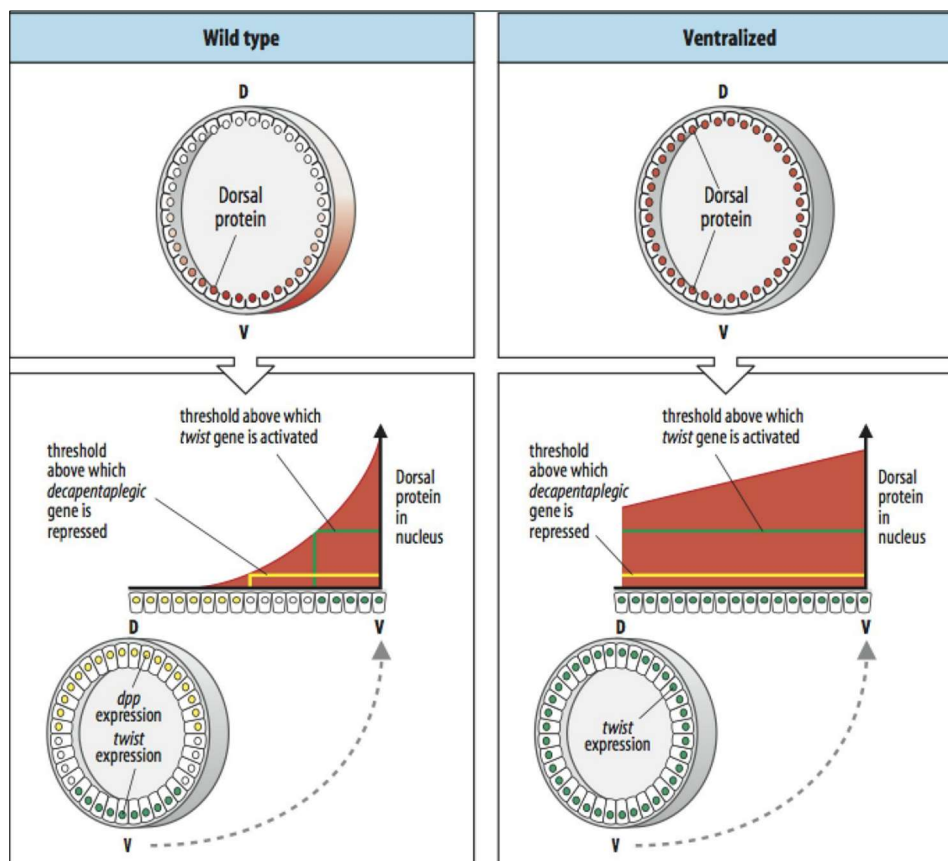


Figure 50: Régulation d'expression de la protéine Dorsal (Developmental Biology 7th ed. Gilbert. 2004)

Les gradients DPP et de SOG s'opposent dans la région dorsale, il apparaît ainsi un gradient dorso-ventral de l'activité DPP, à l'origine d'une information de position.

La subdivision de l'axe dorso-ventral est établie par opposition des gradients de Dorsal et DPP. Résultat de la translocation sélective d'un facteur de transcription dans les noyaux du blastoderme ventral. La protéine Dorsal active les gènes de ventralisation (*snail et twisted*) et répriment les gènes de dorsalisation (*Tolloïd*) (Figure 51).

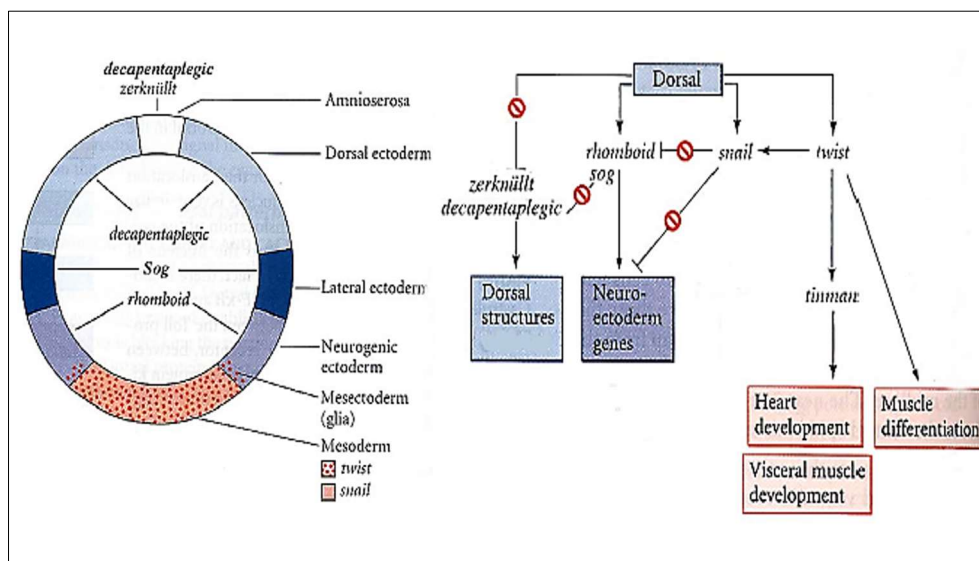


Figure 51: Rôle de la protéine Dorsal dans la formation des feuilletts embryonnaires (Developmental Biology 7th ed. - SF Gilbert. 2004)

4.4.4 Autres mécanismes

Il existe d'autres mécanismes complétant Dorsal. Par exemple, des interactions protéine – protéine concourent à établir un gradient assez pointu pour l'expression de la protéine Décapentaplégiq. À la date de l'expression de cette protéine, la blastula est cellularisée : les noyaux sont isolés les uns des autres. Décapentaplégiq n'est pas un facteur de transcription, mais une protéine sécrétée agissant sur des récepteurs membranaires (signalisation). Décapentaplégiq va déterminer le destin des cellules de l'amnioséreuse et de l'ectoderme dorsal : c'est un morphogène.

Chapitre IV : Gènes de segmentation

1. Introduction

Après le stade embryonnaire syncytial, tous les noyaux somatiques migrent à la surface de l'œuf et se cellularisent. Quelques heures plus tard, les premières manifestations morphologiques de la segmentation apparaissent. Les gènes à effet maternel mettent en place les centres de signalisation au cours de l'ovogenèse, alors que les gènes zygotiques interviennent après la fécondation, ce sont les gènes de segmentation : les gènes lacunaires *gap* ; les gènes de la règle d'appariement *pair rule* et les gènes de polarité segmentaire *segment polarity*. La régionalisation ou segmentation divise le corps le long de l'axe antéro-postérieur. Ces premières étapes mettent en place le nombre et la position des segments, d'autres gènes appelés gènes homéotiques sélecteurs confèrent une identité aux segments (Figure 52).

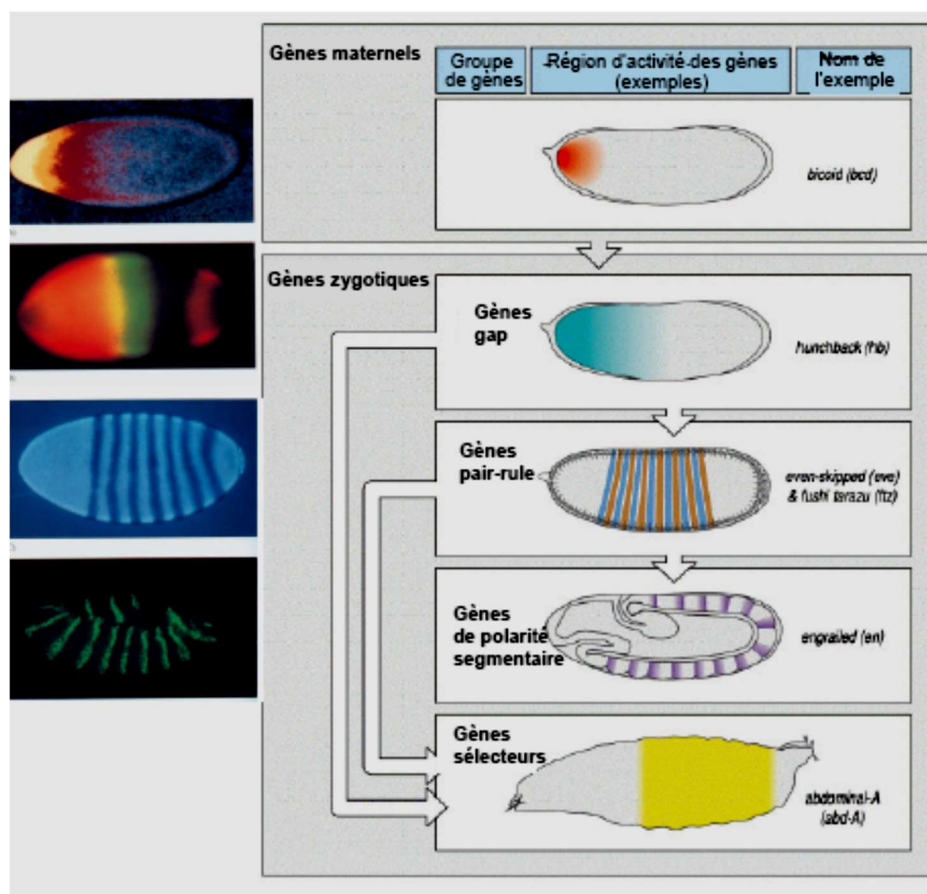


Figure 52: Expression des gènes de segmentation de drosophile (Developmental Biology 7th ed. - SF Gilbert. 2004)

2. Hiérarchie des phénotypes de segmentation

La répartition en gradients des protéines codées par les gènes régulateurs des polarités antéro-postérieure et dorso-ventrale crée un environnement particulier pour chaque noyau de segmentation suivant la région du blastoderme où il aura migré. Dans les noyaux du blastoderme, ces protéines vont réguler l'expression de plusieurs populations de gènes régulateurs : les gènes de segmentation. Ils sont au nombre d'une vingtaine et seront activés différemment dans des régions séparées progressivement par des sillons ectodermiques qui découpent superficiellement le blastoderme de façon transversale. Au cours de ce processus, des aires ne correspondant pas exactement aux métamères de la larve et de l'adulte se mettent en place de façon transitoire : ce sont, au nombre de 14, les parasegments à cheval sur deux métamères successifs. Les véritables segments correspondant aux métamères n'apparaissent qu'ultérieurement.

L'activation des gènes de segmentation comporte 3 étapes et concerne successivement les gènes « *gap* », les gènes « *pair-rule* », et les gènes de polarité segmentaire. On peut considérer, en simplifiant, que chaque génération de gène code pour des protéines régulatrices qui agissent sur l'expression des gènes de la génération suivante.

3. Gènes GAP

Les gènes *gap* sont les premiers gènes zygotiques nécessaires à la segmentation à être transcrits pendant la division des noyaux et avant cellularisation. Chacun de ces gènes est exprimé dans une large bande transversale (Figure 53). Après la fécondation, les gènes *gap* utilisent les gradients des gènes maternels pour mettre en place leur propre expression. Ils codent pour des facteurs de transcription capables de réguler des gènes cibles en aval. Ce sont des gènes dont une mutation détermine un vide (ou « *gap* ») dans l'organisation de la larve. Ce sont ces anomalies qui ont permis de les définir. Chaque gène s'exprime dans un ensemble de parasegments qui lui est propre.

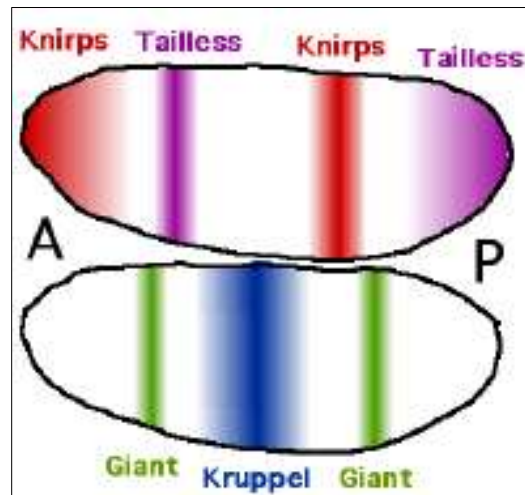


Figure 53: Domaine d'expression des gènes Gap (Developmental Biology 7th ed. - SF Gilbert. 2004)

3.1 Différents types de gènes *gap*

Au nombre total de neuf gènes actuellement connus, on distingue les gènes *gap* antérieurs comme *orthodenticle* (*otd*), *empty spiracle* (*ems*) et *button head* (*btd*) dans la tête de l'embryon, *hunchback* zygotique (*hb*) dans le segment gnathal et les segments thoraciques, *Krüppel* (*kr*) dans le thorax et les premiers segments abdominaux, *Knirps* (*kni*) dans l'abdomen et *giant* (*gt*) exprimé dans la tête et la partie postérieure de l'abdomen. Dans les parties terminales les gènes *gap* exprimés sont *huckebein* (*hkb*) et *tailless* (*tl*).

3.2 Régulation des gènes *gap*

De manière générale, l'expression des gènes *gap* est activée directement par les facteurs de transcription maternels. Cette activation dépend de la concentration locale des protéines maternelles. Seul *knirps* et *giant* sont activés par une protéine encore inconnue et exprime ubiquitairement dans l'embryon.

Les gènes « *gap* » influencent leur expression mutuelle par le jeu de leurs protéines et délimitent ainsi des frontières entre leurs domaines respectifs d'expression. Ils s'autorégulent et agissent les uns sur les autres, la répression des gènes *gap* est d'abord sous le contrôle des gènes maternels, ensuite les gènes adjacents se répriment entre eux et affinent les limites des domaines d'expression des gènes les entourant.

L'inhibition réciproque sert à avoir des frontières qui sont nettes et stables. Les gènes maternels activent et organisent globalement l'expression des gènes *gap*. Les inhibitions réciproques définissent des limites précises et stables (Figure 54).

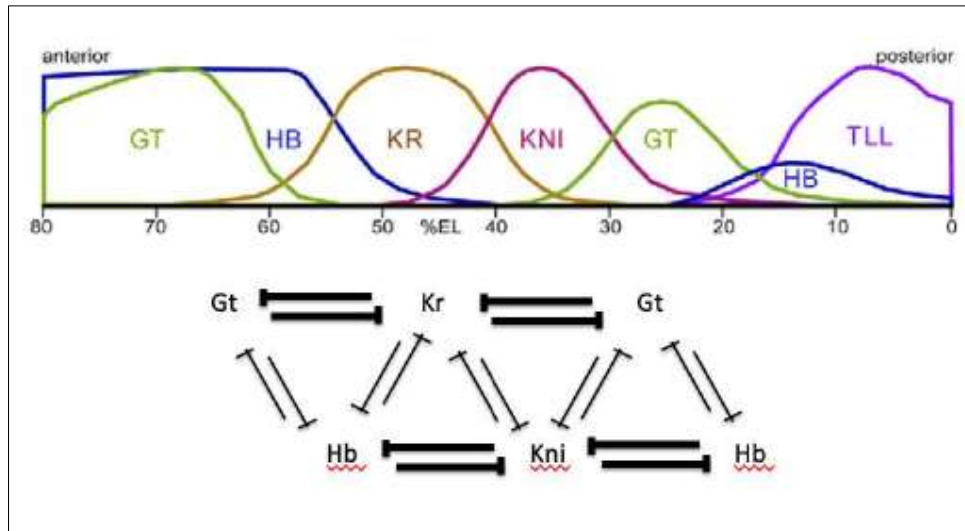


Figure 54: Régulation des gènes *gap* (jäckle 1993)

Tout d'abord les gradients se chevauchent, puis chaque gène activé réprime les autres, il en résulte au stade blastoderme des combinaisons uniques de protéines GAP le long de l'axe antéro-postérieur (domaines GAP), chaque domaine correspond à plusieurs segments.

3.3 Expression de *hunchback*

Le gène *hunchback* est régulé positivement par la protéine Bicoïd et les transcrits correspondants (fig. 11.3) seront normalement traduits en protéine régulatrice Hunchback dans les parasegments antérieurs du corps. En s'approchant de la partie postérieure du corps, la traduction de ces ARN-m en protéines sera progressivement inhibée par une quantité croissante de la protéine de polarité Nanos qui inhibe la traduction de Hunchback ; la protéine sera par conséquent présente suivant un gradient décroissant vers l'arrière (fig. 11.3). La protéine Hunchback, contrôle les territoires où sont transcrits en ARNm trois autres gènes « *gap* » (*giant*, *Krüppel* et *knirps*), chacun d'eux étant activé par une (ou des) concentration(s) différente(s) de cette protéine.

On peut « imaginer » l'activation de *hunchback* (bossu), Cette activation dépend de l'ADN régulateur en amont du gène (en haut), elle dépend aussi du gradient de Bicoid (en bas), une variation d'un facteur x2 fait passer le gène de Off à On.

3.4 Expression de *Krüppel*

Le gène *Krüppel* est un gène entièrement zygotique dont les mutants nuls présentent une grande délétion de la partie centrale du corps comprenant le thorax et les segments abdominaux correspondant aux parasegments 4 à 6, c'est-à-dire ceux à partir desquels s'élaborent les trois segments thoraciques et le premier abdominal, une seconde copie du segment abdominal 6 est souvent retrouvée en orientation inversée. Le gène encode un facteur de transcription à doigt de zinc. Son expression commence dans le blatoderme syncytial en une bande centrale. Il est activé par Bicoid et Hunchback, et réprimé par Knirps et Giant. Ce gène exerce normalement, dans le territoire où il s'exprime, une inhibition des gènes « *gap* » actifs dans les territoires voisins.

La protéine Hunchback est un facteur de transcription exprimé selon un gradient de concentration, l'ADN régulateur de *krüppel* possède deux sites de fixation de Hunchback avec des affinités différentes, activateur et répresseur. La transcription de *krüppel* se fait dans une fenêtre de concentration moyenne de la protéine Hunchback. Dans un mutant de *bicoid*, il n'y a pas de synthèse de Hunchback embryonnaire, mais seulement de la protéine maternelle : on n'a pas de bande de *krüppel*. Pour la définition des bandes, il faut ajouter des effets de type répression des gènes les uns sur les autres.

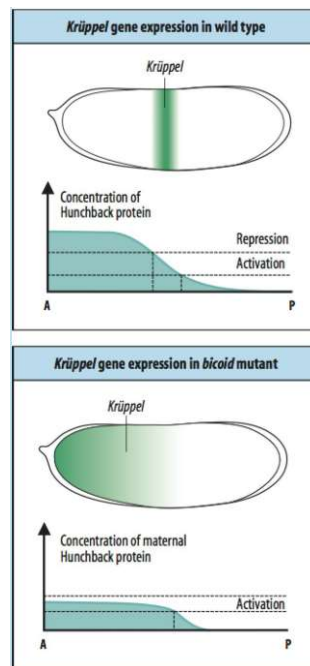


Figure 55: Régulation de l'expression du gène Krüppel

(<https://bastiani.biology.utah.edu/courses/3230/db%20lecture/lectures/a9FlyMaternal.html>)

La protéine Hunchback est répartie en gradient, une forte concentration de cette protéine réprime la transcription de *krüppel*, alors qu'une concentration moyenne l'active et une faible concentration est sans effet (Figure 55).

3.5 Expression de *Knirps* et *Giant*

Chez les animaux normaux, les gènes « *gap* » s'expriment sous l'effet régulateur des produits des gènes de polarité. Dans la partie postérieure de l'embryon, c'est la protéine Caudal, distribuée suivant un gradient inverse de la protéine Hunchback qui régule l'expression de *knirps* et du second site de *giant*. Les aires de répartition de ces protéines régulatrices sont plus larges que celles des ARNm correspondants car elles diffusent après leur sécrétion.

Les mutants nuls de *Knirps* sont similaires à ceux du groupe postérieur maternel : les segments abdominaux 1 à 7 remplacés par un simple grand segment abdominal à l'identité incertaine. Le gène *knirps* encode un facteur de transcription appartenant à la famille des récepteurs nucléaires ; son profil d'activation est constitutif, et la position de la bande principale dans le développement normal est régulée par la répression due à Hunchback et à Tailless.

Les mutants de *giant* présentent des anomalies du thorax antérieur et des segments abdominaux A5-A7. Ce gène encode un facteur de transcription à crémaillère à leucines et l'expression commence dans le blastoderme syncytial en deux zones, l'une antérieure et l'autre postérieure. Au blastoderme cellulaire, la bande postérieure s'évanouit et la bande antérieure s'est divisée en trois bandes. Giant est activé par Bicoid et Caudal, et réprimé dans les régions antérieures par Hunchback.

3.6 Expression de *tailless* et *huckebein*

tailless et *huckebein* sont des gènes zygotiques activés par Torso. Les mutants présentent chacun des anomalies des extrémités, qui ensemble s'additionnent au phénotype produit par les mutants des gènes terminaux maternels (Figure 56).

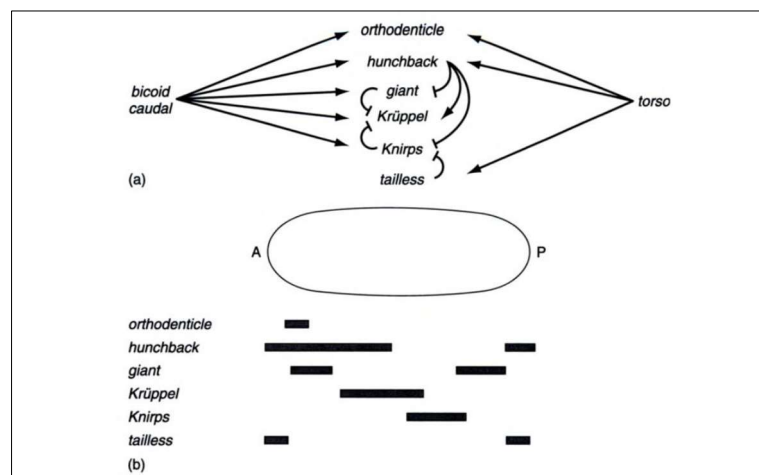


Figure 56: Gènes *gap*. (a) certaines relations régulatrices ; (b) domaines d'expression simplifiée de six gènes *gap* (Slack., 2004)

4. Gènes *Pair Rule*

Dans la hiérarchie du développement, les gènes *pair-rule* fonctionnent comme une couche entre les gènes *gap* et ceux de la *polarité segmentaire*. Ils interviennent aussi avec les gènes *gap*, dans le contrôle de l'expression des gènes *sélecteurs hométiques* et l'alignement de leurs domaines avec le schéma répété segmentaire. L'activation des gènes *pair-rule* représente la première formation d'un schéma réitéré dans l'embryon. La différence de concentration en protéine GAP est un facteur de transcription pour activer les gènes *pair-rule* (Figure 57). Ceux-ci découpent l'embryon en régions plus fines. Ils ont une expression périodique.

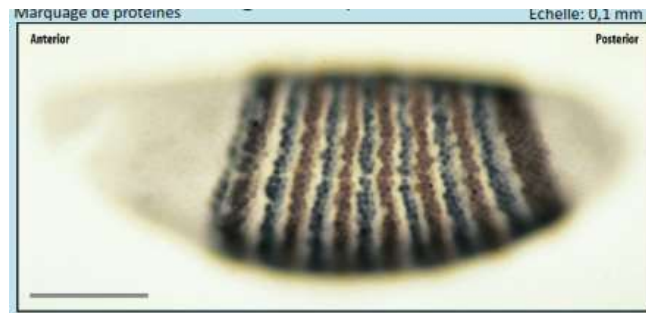


Figure 57: Expression des gènes pair-rules
 (<https://fr.slideshare.net/ShreyaAhuja2/segmentation-in-drosophila-melanogaster>)

Les gènes *pair-rules* sont exprimés en sept bandes transversales le long de l'axe antéro-postérieur dans le tronc de l'embryon. Ces gènes agissent directement sur le développement et la différenciation des parasegments et lorsqu'ils sont mutés, provoquent un phénotype caractéristique où un segment sur deux disparaît dans le tronc de l'embryon. L'expression des gènes *pair-rules* commence peu avant la cellularisation et continue pendant l'extension de la bandelette germinative.

A ce stade, 14 parasegments sont visibles, les gènes *pair-rules* sont exprimés dans un parasegment sur deux (en 7 bandes). Les parasegments sont des unités de développement indépendantes, les frontières des parasegments ne sont pas celles des segments définitifs.

Tous les gènes *pair-rules* codent des facteurs de transcription et leurs profils d'expression sont constitués de sept raies correspondant à des bandes de blastoderme syncytial de deux segments de large.

4.1 Différents types de gènes *pair-rules*

Ces gènes, au nombre de 8, sont activés en deux étapes, dès le 13^{ème} cycle mitotique, dans l'embryon déjà compartimenté en territoires par les gènes « *gap* ». Trois gènes « *pair-rules* » dits primaires (ou précoces) sont sous le contrôle de protéines régulatrices codées par les gènes « *gap* » ; les cinq autres gènes, « *pair-rules* » dits tardifs (ou secondaires), sont sous le contrôle des protéines régulatrices codées par les trois premiers gènes « *pair-rules* », leur expression apparaît de façon progressive, ils sont exprimés alternativement dans les parasegments.

4.2 Expression des gènes *pair-rules* primaires

L'expression de ces différents gènes se manifeste quand le blastoderme est encore syncytial. Chaque gène s'exprime au niveau de rangées de noyaux organisées le long de l'axe céphalo-caudal, et qui alternent avec des rangées où il ne s'exprime pas. Étant donné que pour chacun de ces gènes, la succession des rangées de noyaux où il s'exprime ou non est différente, il en résulte que chaque rang de noyaux possède probablement son assortiment propre de 35 protéines régulatrices. Cette organisation qui définira les parasegments est donc le résultat d'une série de régulations géniques exercées par les protéines issues de l'expression antérieure de gènes « *gap* ».

Les gènes *pair-rule* primaires ont des régions régulatrices complexes contenant plusieurs séquences amplificatrices. En général, chaque bande d'expression a sa propre séquence amplificatrice qui contient des sites de liaison chevauchants pour des activateurs et des represseurs de telle manière qu'elle sera activée si les activateurs prédominent et inactivée dans le cas contraire. L'expression des gènes *pair-rule* primaires est dynamique (Figure 58), les limites des bandes sont d'abord floues, puis les limites antérieures s'affinent. En effet, au stade 10 leur expression est faible et uniforme puis au stade 14 (cellularisation) sept (7) bandes distinctes sont observées.

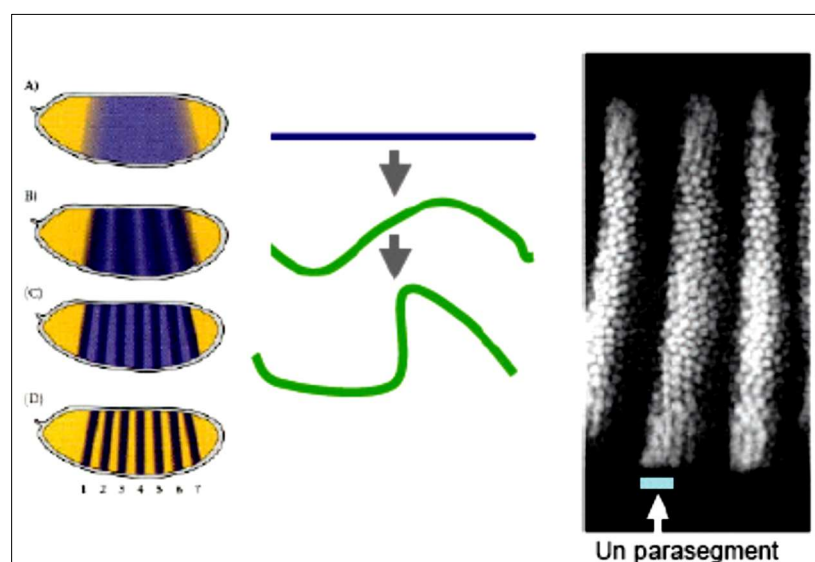


Figure 58: Expression progressive du gène *even skipped* (Gilbert. 2004)

4.2.1 Régulation de l'expression du gène *even-skipped* (*eve*)

Le gène *even-skipped* a été soumis à une analyse très détaillée. Il code pour une protéine à homéodomaine et possède de grandes régions régulatrices contenant 12 séquences amplificatrices. Ce gène est responsable de la formation des parasegments impaires avec les deux autres gènes *pair-rule* primaires (*hairy* et *runt*). Comme exemple, l'élément de la 2^{ème} bande d'expression de *eve* (3^{ème} parasegment) est activé par Bicoid et Hunchback dans un domaine assez large, et est réprimé par Giant et Krüppel qui déterminent les limites d'expression antérieures et postérieures (Figure 59).

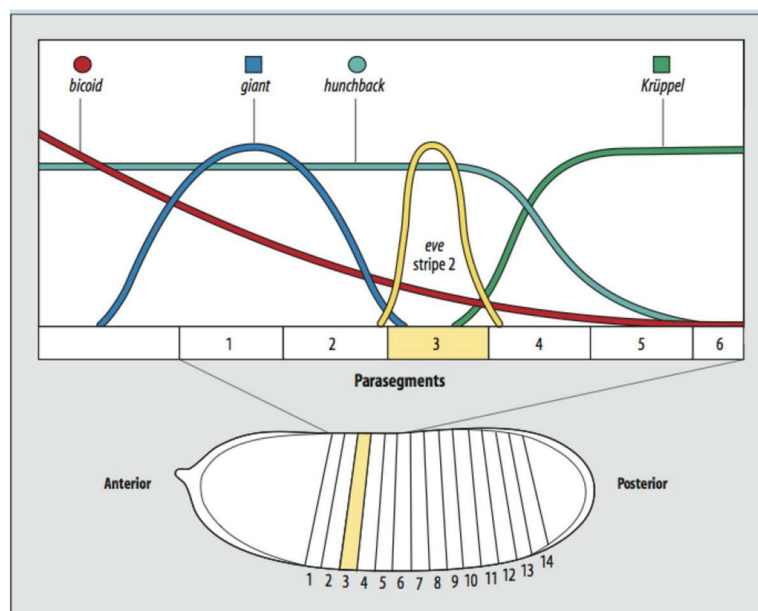


Figure 59: Patron d'expression de la deuxième bande du gène *even-skipped* (Glibert., 2004)

Dans la région de l'ADN régulateur (environ 600 paires de bases) de la 2^{ème} bande d'expression en amont du gène *even-skipped* (à 1 000 paires de bases), il y a de nombreux sites de liaison de protéines codées par les gènes Gap, certaines liaisons sont activatrices d'autres inhibitrices (Figure 60), l'activité du gène résulte de cette combinatoire, elle est traduite spatialement ; l'expression de ces gènes est transitoire.

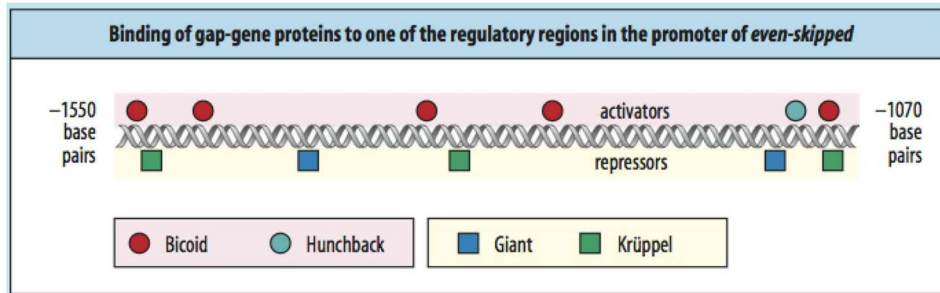


Figure 60: Séquence régulatrice de la 2^{ème} bande du gène *even-kipped* (Glibert., 2004)

4.3 Expression des gènes *pair-rule* secondaires

L'expression de ces gènes « *pair-rule* » est aussi stabilisée ou régulée par des interactions. Par exemple, l'activité du gène *fushi tarazu* (en japonais : trop peu de segments) produit des protéines, dans tous les parasegments, au début du 14^{ème} cycle mitotique. C'est un gène « *pair-rule* » tardif. Sa transcription est rapidement réprimée dans certaines rangées de noyaux où des gènes « *pair-rule* » précoces exercent une régulation négative ; ces rangs alternent avec d'autres où, en l'absence des inhibiteurs, les protéines *Fushi tarazu* stimulent leur propre synthèse

4.3.1 Expression des gènes *fushi-tarazu*

Le gène *fushi-tarazu* (*ftz*) est un gène *pair-rule* secondaire dont l'expression ne dépend pas seulement des gènes maternels et *gap* mais aussi des gènes *pair-rule* primaires. Le mode de régulation transcriptionnelle des gènes *pair-rule* secondaires est différent de celui des primaires. Ainsi, l'expression de *fushi-tarazu* est d'abord activée uniformément dans l'embryon par un activateur encore inconnu, puis réprimée aux pôles probablement par les produits des gènes maternels terminaux. Enfin, l'établissement de la périodicité des bandes le long de l'embryon dépend majoritairement du gène *hairy* mais aussi des gènes *runt* et *even-kipped*. Ces gènes *pair-rule* primaires répriment l'expression de *fushi-tarazu* qui est alors exprimé en 7 bandes transversales le long de l'axe antéro-postérieur de l'embryon.

Fushi-tarazu est un facteur de transcription à homéodomains qui reconnaissent le site ATTA sur le promoteur du gène cible. Il a une faible spécificité pour son domaine de liaison et peut donc activer un très grand nombre de gènes cibles. Au cours du

développement embryonnaire, le co-facteur FTZ-F1 de la famille des récepteurs nucléaires des hormones, déposé maternellement, interagit directement avec Fushi-tarazu et module la spécificité du facteur de transcription.

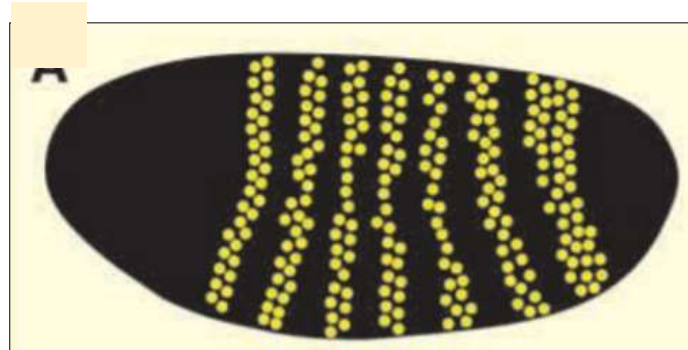


Figure 61: Un changement du nombre de noyaux ne perturbe pas la spécificité du patron d'expression du gène pair-rule fushi-tarazu (https://cob.silverchair-cdn.com/cob/content_public/journal/dev/127/14/10.1242_dev.127.14.2977/1/2977.pdf)

5. Gènes de polarité segmentaires

Au cours de la vie de la drosophile, on distingue deux unités de segmentation qui se chevauchent : **les segments** et **les parasegments**. Les segments correspondent aux unités observées chez l'adulte, trois segments composant la tête, trois thoraciques et huit abdominaux (Figure 62). Chez la larve de drosophile, les parasegments sont délimités par des épaissements mésodermiques et des replis ectodermiques, la partie postérieure de chaque parasegment correspond à la partie antérieure d'un segment.

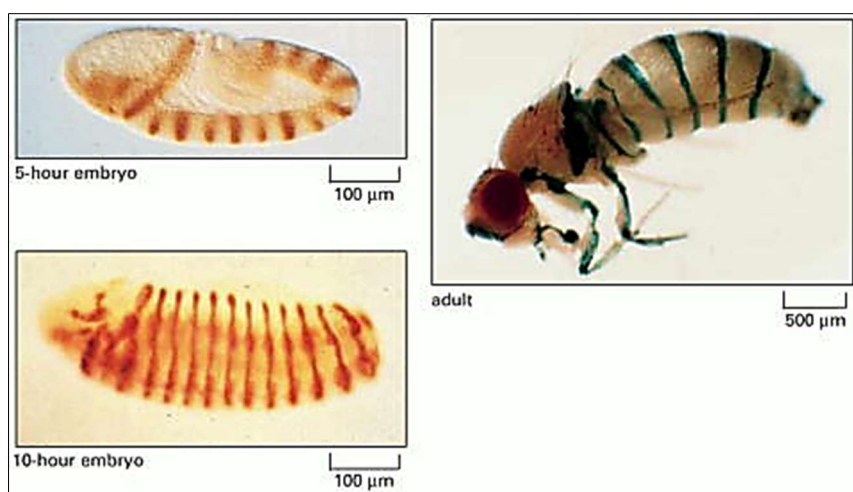


Figure 62: Expression des gènes de polarité segmentaire chez la drosophile (Gilbert., 2004)

Peu après la cellularisation, les gènes de polarité segmentaire sont exprimés et divisent les domaines des gènes *pair-rule* en deux, formant 14 bandes de 1 à 2 cellules de largeur chacune le long de l'axe antéro-postérieur. Les gènes exprimés dans des cellules voisines interagissent entre elles et définissent les compartiments antérieur et postérieur de chaque segment. Lorsque les gènes de polarité segmentaire sont mutés (Figure 63), un des compartiments du segment (antérieur ou postérieur) disparaît et est remplacé par une duplication en miroir de la partie restante. Ce phénotype est visible sur la cuticule larvaire de la drosophile.

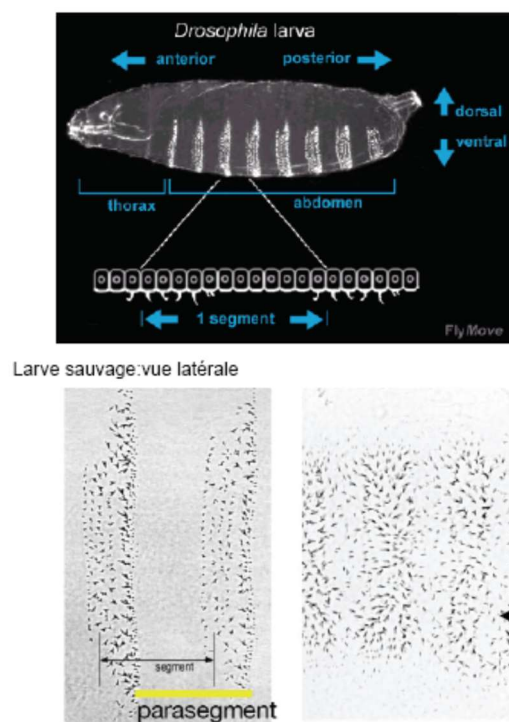


Figure 63: Les mutants de polarité des segments (Gilbert., 2004)

Jusqu'à l'expression des gènes *pair-rules*, la cellularisation de l'embryon n'avait pas commencé, ainsi les produits Gap pouvait donc diffuser de noyau en noyau. Les facteurs "pair rules" peuvent plus difficilement diffuser, et la cellularisation est terminée lorsque les facteurs "polarité segmentaire" s'expriment. Ils ne sont donc plus capables de diffuser, et une signalisation devient donc nécessaire.

5.1 Différents types des gènes de polarité segmentaire

Il existe une batterie de gènes "*polarité segmentaire*", et ils fonctionnent de manière plus ou moins différente. Il y a 9 gènes transcrits chacun à partir d'une bande de noyaux dans chaque parasegment. Ce sont les produits des gènes « *pair-rule* » qui définissent quels noyaux peuvent exprimer un gène de polarité segmentaire particulier. Par exemple, dans les cellules d'un parasegment, le gène *engrailed* qui code pour un facteur de transcription est exprimé si l'une ou l'autre des protéines « *pair-rule* » *Even-skipped* ou *Fushi tarazu* est présente ; le gène *wingless* qui code pour un facteur de signalisation, au contraire, ne s'exprime que si l'une et l'autre sont absentes, mais *odd paired* doit être exprimé.

L'expression des gènes *wingless* et *engrailed* se maintient grâce à des interactions entre les cellules exprimant l'un ou l'autre de ces deux gènes. Chaque type de cellule stimule par ses sécrétions l'expression des gènes spécifiques de l'autre, maintenant ainsi la stabilité du plan établi par le produit des gènes de polarité. Les cellules qui expriment *en* et *wg* sont situées de manière très précise, de part et d'autre de la ligne de séparation entre deux parasegments, on trouve ainsi en *engrailed* position postérieure d'un parasegment et *wingless* en position antérieure du parasegment suivant. Les gènes "*polarité segmentaire*" codent à la fois pour des facteurs de transcription et pour des facteurs de croissance, des récepteurs...etc.

5.2 Expression du gène *engrailed* (*en*)

La transcription des gènes de polarité segmentaire est régulée par une combinaison de gènes *pair-rule* qui jouent le rôle d'activateur ou de répresseur. Les limites des compartiments sont les restes des limites des parasegments correspondaient au domaine d'expression de gènes *even-skipped* et *fushi-tarazu*. Le gène *engrailed* encode une protéine à homéodomaine, il est exprimé dans les deux tiers antérieurs de chaque parasegment, la région antérieure d'un parasegment constituera le compartiment postérieur d'un segment mature. Les mutant *engrailed* présentent une absence des compartiments postérieurs des segments.

Le gène *engrailed* a une expression stable, à l'avant de chaque parasegment marqué par un sillon transitoire. Initialement, il s'exprime dans une bande large d'une cellule, on observe que les frontières se redressent ; le gène *engrailed* marque des frontières que les cellules ne franchissent jamais (Figure 64).

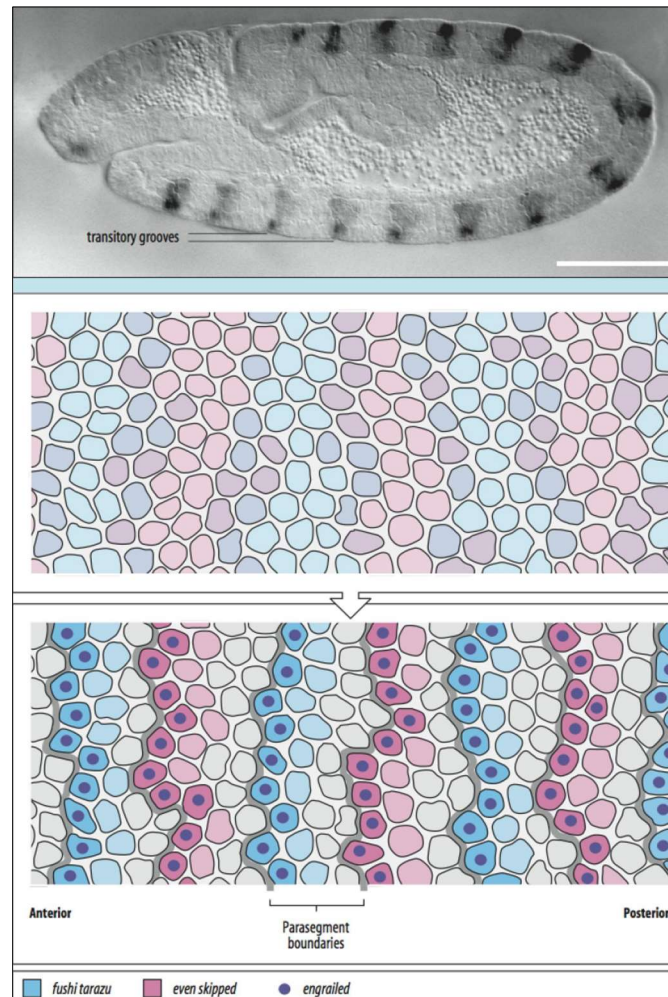


Figure 64: Régulation de l'expression de *engrailed* (Gilbert., 2004)

5.3 Expression du gènes *wingless*

La transcription des gènes de polarité segmentaire est régulée par une combinaison de gènes *pair-rule* qui jouent le rôle d'activateur ou de répresseur. Ainsi, l'expression du gène *wingless* est activée par la protéine Odd-paired et réprimé par les protéines Fushi-tarazu et Even-skipped. Outre *engrailed* (*en*), la segmentation est assurée par *wingless* (*wg*) et *hedgehog* (*hh*).

Elle arrive après la cellularisation, ces gènes vont synthétiser des protéines qui vont activer des voies de signalisation dans des cellules voisines, il y a une rétroaction positive qui stabilise la frontière.

La pousse des denticules est réprimée par *Wingless* (Figure 65) : cuticule lisse, elle suit le gradient de *Wingless* et s'exprime en amont et loin de la bordure. Dans un mutant *wingless*, *hedgehog* et *engrailed* ne s'expriment plus (à droite), on a des denticules partout : *Hedgehog* = Hérisson. Les denticules sont dans tous les sens alors que dans le sauvage, elles étaient orientées vers l'arrière (polarité cellulaire planaire).

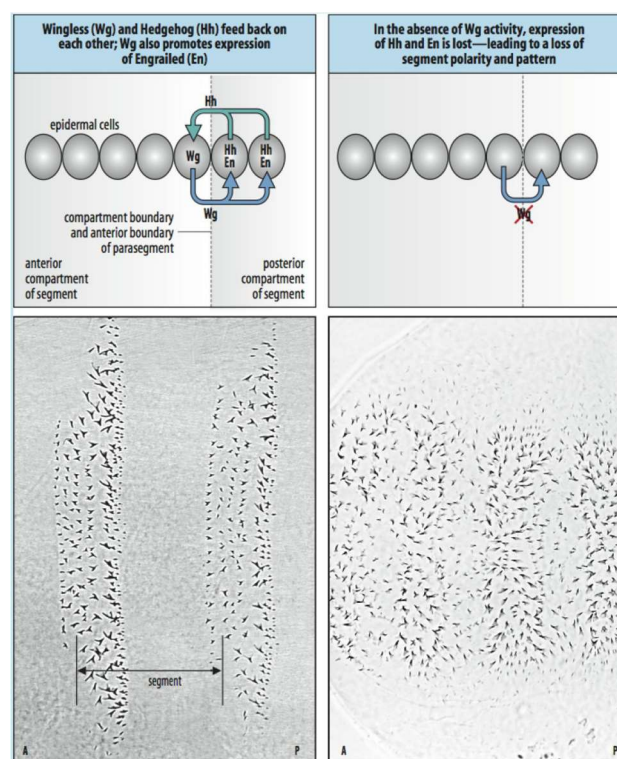


Figure 65: La pousse des denticules est réprimée par *Wingless* (Gilbert., 2004)

5.4 Compartimentation

La frontière « infranchissable » formée par les cellules exprimant *engrailed* indique que les cellules du parasegment sont sous un même contrôle génétique qui les empêche de se mélanger avec leurs voisines et qui contrôle leur descendance, cet ensemble de cellules est défini pour toute la vie de l'insecte : larve, puppe, adulte. En effet, l'expériences de lignage cellulaire : la descendance d'une cellule d'un compartiment reste dans le compartiment, ainsi *Engrailed* doit rester exprimé pendant

toute la vie pour que la restriction de lignage s'observe : c'est un gène sélecteur, sa présence est suffisante pour que des cellules acquièrent un phénotype spécifique.

La protéine Engrailed définit un compartiment par son homogénéité génétique. Les premiers observateurs ont défini la segmentation morphologiquement, par les denticules apparaissant chez la larve plus âgée, pour eux, l'avant du segment correspond aux denticules, car les denticules sont produits par les cellules placées juste derrière les cellules exprimant la protéine Engrailed, en effet seuls les parasegments ont un sens biologique.

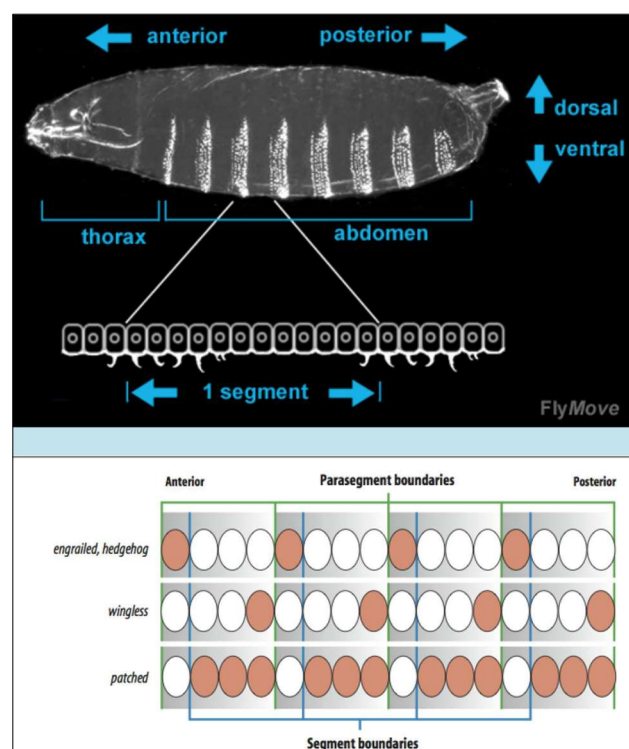


Figure 66: Régulation de l'expression des gènes de polarité segmentaire (Gilbert., 2004)

5.5 Signalisation par les voies *hedgehog* et *wingless*

En temps normal, une seule rangée de cellules dans chaque parasegment exprime la protéine Hedgehog, et une seule rangée de cellules dans chaque parasegment exprime la protéine Wingless (Figure 67). Le gène *engrailed* est exprimé dans les cellules les plus antérieures de chacun des 14 parasegments ce qui correspond aux cellules juste postérieures par rapport à celles qui vont exprimer *Wingless*. Son expression est contrôlée par une combinaison activatrice et inhibitrice de protéines codées par les gènes *pair-rules*.

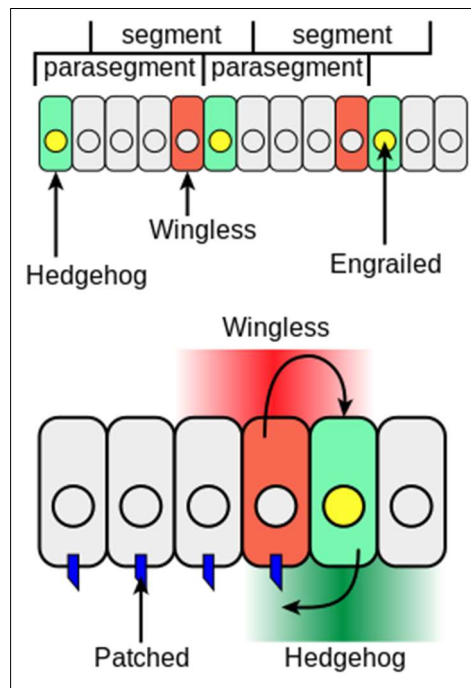


Figure 67: Spécification de la polarité des segments/parasegments par Engrailed et la signalisation Hedgehog et Wingless.

(https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Fichier:Wingless_and_Hedgehog_reciprocal_signaling_during_segmentation_of_Drosophila_embryos.svg)

La protéine Engrailed est exprimé dans les cellules postérieurs à la frontière (limite antérieure du parasegment), il active sa propre transcription et celle de *hedgehog* (hh sécrétée dans le milieu extra-cellulaire), le signal Hedgehog - Patched (récepteur) active le gène *wingless*. Cette dernière est exprimée dans les cellules antérieures à la frontière (limite postérieure du parasegment), c'est une protéine sécrétée de la famille Wnt, elle active sa propre expression (autocrine) et celle de *engrailed* après sa fixation sur son récepteur Frizzled. Une boucle de régulation impliquant des signaux paracrines maintient la frontière, plus tard dans le développement, l'expression des deux gènes devient indépendante.

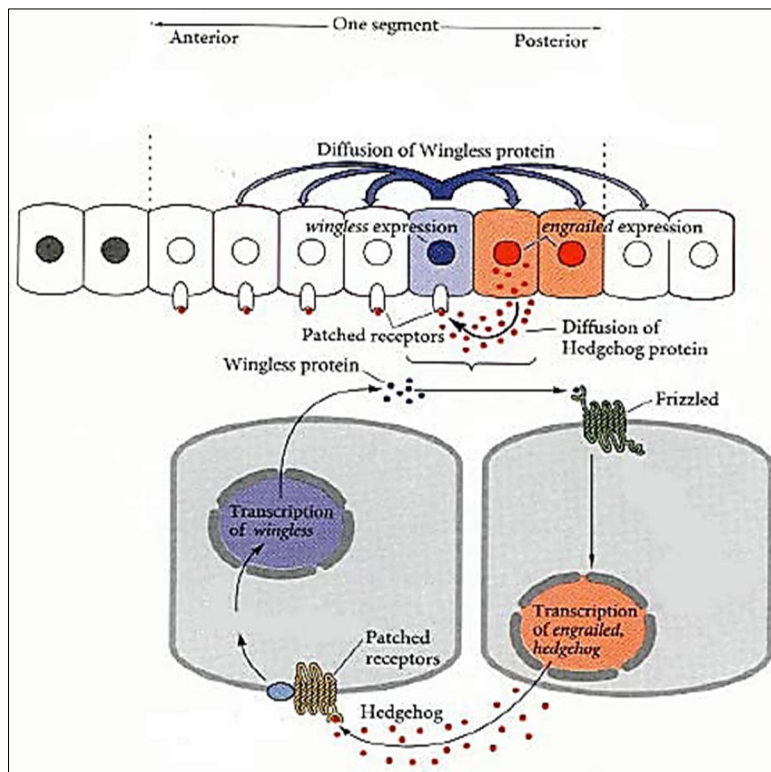


Figure 68: Régulation paracrine qui maintient les frontières d'expression des gènes *engrailed* et *wingless* (Gilbert., 2004)

Ces deux voies interviennent à de nombreux niveaux, non seulement chez la drosophile mais aussi chez les vertébrés. Les protéines Hh ou Wnt se lient à des récepteurs sur la membrane des cellules, cette liaison « active » le récepteur qui va émettre des signaux intracellulaires, ces signaux vont rentrer dans le noyau et en se combinant avec des facteurs de transcription, ils vont « activer » la lecture de gènes (Figure 69).

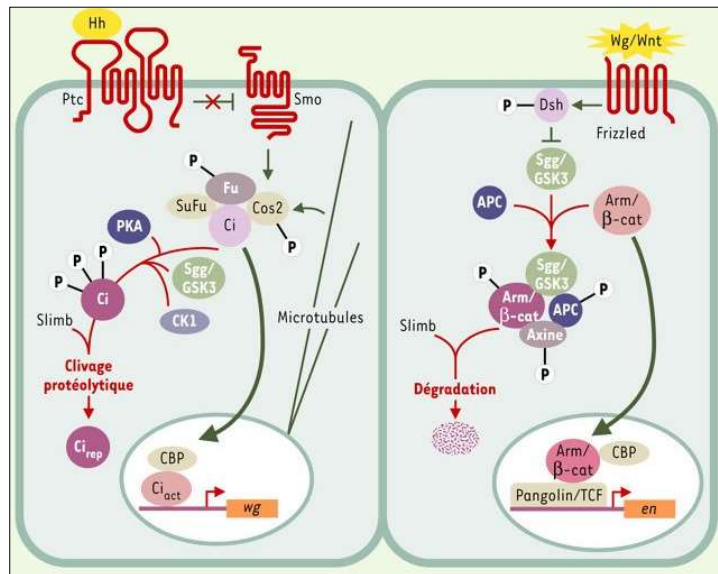


Figure 69: Voie de signalisation hedgehog et wingless chez la drosophile (Muriel Navarro et Pascal Théron., 2002)

On peut retrouver des équivalents de tous ces gènes chez les Vertébrés pour la mise en place de la polarité de l'embryon. Les équivalents de *gap*, de *pair rules* et de *segment polarity* sont synthétisés par les centres organisateurs. Ainsi, la spécification de l'axe antéro-postérieur dépend principalement des gradients, et la segmentation est un système hiérarchisé de gènes régulateurs, les frontières des parasegments sont délimitées, puis les segments s'organisent autour de ces frontières.

Chapitre V : Gènes homéotiques

1. Gènes homéotiques chez la drosophile

Après l'établissement des limites segmentaires, on assiste à la caractérisation de l'identité des segments. Cette caractérisation est réalisée par les gènes homéotiques. Ces gènes déterminent les structures caractéristiques de chaque segment en sélectionnant les gènes activés dans chaque segment.

Ils sont connus grâce à des mutations qui provoquent la transformation d'une partie du corps en une autre, phénomène qui fut observé et décrit par Bateson (1894) et désigné par celui-ci, d'après un terme grec, sous le nom d'« homéosis » (Figure 70, 71). Ces mutations ont été appelées homéotiques et les gènes correspondants, gènes sélecteurs homéotiques, car ils sélectionnent les gènes activés dans chaque segment.

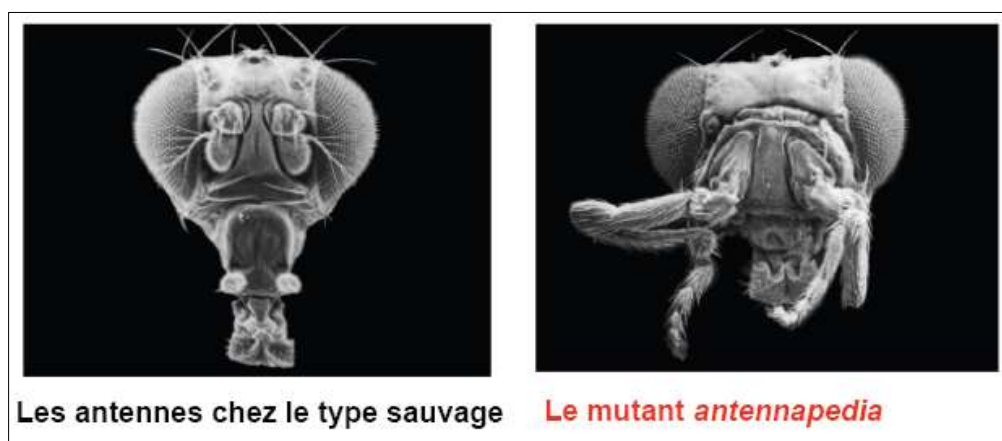


Figure 70: Mutation *antennapedia* chez la drosophile (Blaudin de Thé., 2015)

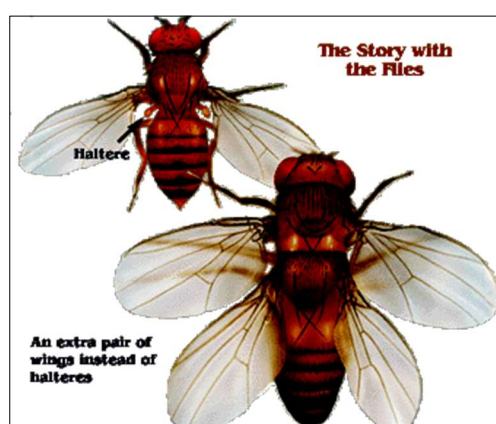


Figure 71: Mutation *ultrabithorax* chez la drosophile

(<https://interestingbiology.wordpress.com/2013/04/05/mutant-homeotique-la-mouche-dans-tous-ses-etats/>)

Ce sont des gènes sélecteurs : par leur effet, ils orientent le destin d'ensembles cellulaires, ils interviennent dans le développement de nombreux organismes, homme inclus. Ce sont des facteurs de transcription ; on ne sait pas combien de gènes ils contrôlent. Sur le plan moléculaire, ils sont caractérisés par leur domaine d'interaction avec l'ADN qui a une structure conservée (environ 60 acides aminés), appelée l'homéoboîte.

1.1 Cartographie des gènes sélecteurs homéotiques

Chez la drosophile, on a localisé ces gènes sur le chromosome 3 où, regroupés pour la plupart en 2 régions, ils forment 2 complexes de gènes :

- Le complexe « **Antennapedia** » avec 5 gènes qui déterminent des structures de la tête et du thorax ; il correspond aux groupes paralogues de 1 à 6 des vertébrés, il contient les gènes : *labial*, *proboscipedi*, *deformed*, *sex combs reduced* et *antennapedia*.
- Le complexe « **Bithorax** » qui détermine des structures du 3^{ème} segment thoracique et de l'abdomen, il correspond au groupe des paralogues 7 à 10 des vertébrés, il contient les gènes : *ultrabithorax (ubx)*, *abdominal-A* et *abdominal-B*.

L'ensemble de ces deux complexes de gènes a été appelé initialement complexe HOM ou HOM-C (E. Lewis) (Figure 72). Actuellement cette terminologie est progressivement remplacée par la dénomination générale Hox désignant l'ensemble des gènes homéotiques. Ses gènes ont été clonés et des sondes d'ADNc permettent, par hybridation *in situ*, de localiser les ARNm qu'ils transcrivent dans des régions spécifiques de l'embryon.

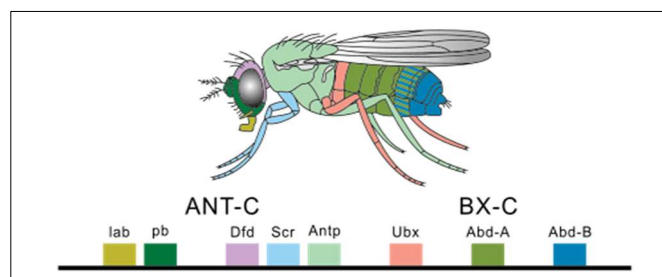


Figure 72: Gènes *hox* de drosophile (<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/genetique-gene-homeotique-6035/>)

1.2 Structure des gènes homéotiques

Tous les gènes homéotiques sont des homéogènes. Ils contiennent donc (ainsi que quelques autres gènes de développement, comme *bicoid*) une séquence de 180 paires de base, l'homeobox ou homéoboîte codant pour une séquence de 60 acides aminés qui constitue le domaine de liaison à l'ADN de la protéine régulatrice. C'est l'homéodomaine.

Ces homéodomaines sont importants car ils déterminent les sites de liaison des protéines régulatrices sur l'ADN, et donc le gène, ou les gènes, qui seront régulés, par activation ou inhibition de la transcription, dans les cellules où ces protéines sont présentes. Ce sont donc ces homéodomaines qui déterminent le (ou les) gène(s) que régulera chaque protéine régulatrice.

La structure protéique tridimensionnelle de l'homéodomaine s'organise en trois hélices α qui forment le motif hélice-boucle-hélice (ou **HLH** pour Helix-Loop-Helix) (Figure 73). Le motif **HLH** constitue le domaine d'interaction avec la molécule d'ADN. C'est cette partie de la molécule qui s'insère dans le sillon de la double hélice de l'ADN et contribue à ouvrir celle-ci pour la rendre transcriptionnellement active. La séquence nucléotidique minimum reconnue par le motif **HLH** est constituée des quatre bases **TAAT** (ou ATTA complémentaire).

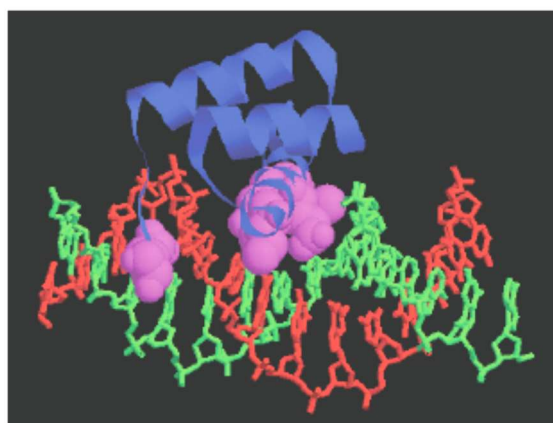


Figure 73: Structure 3D de la séquence homéodomaine (Gilbert., 2004)

Les homéodomaines de toutes les protéines régulatrices sont extrêmement proches par leur structure et ne diffèrent entre eux que par quelques acides aminés.

Ce degré d'homologie élevé entre les gènes homéotiques résulterait de leur origine commune (gène ancestral). Les faibles différences dans la structure de leur homéodomaine permettent à chacune d'elles de se lier préférentiellement aux séquences régulatrices d'un gène déterminé. La nature de la régulation activation ou inhibition, dépendra aussi d'autres domaines de la protéine régulatrice.

1.3 Expression des gènes homéotiques

L'expression des gènes homéotiques est présente dans des segments contigus et est régulée, dans un premier temps, par les gènes *gap* et *pair-rule*, puis par les gènes *homéotiques* qui leur sont postérieurs. Par exemple, l'induction du gènes *antennapedia* est faite par *fushi-tarazu* et *krüppel*, puis le gène *gap* *knirps* réprime son expression antérieurement (Figure 74). Plus tard, cette répression implique *ultrabithorax* qui est exprimé dans les segments postérieurs à *antennapedia*.

L'aire d'expression de chacun de ces gènes à une répartition caractéristique le long de l'axe antéro-postérieur de l'animal qui respecte la règle de colinéarité, avec une limite d'expression antérieure très nette et un taux d'expression décroissant d'avant en arrière. Lorsqu'un gène régulateur ne s'exprime plus dans son territoire normal d'expression à la suite d'une mutation, un autre gène impose son information de position : si, par exemple, *Ultrabithorax* (*Ubx*) ne s'exprime plus dans la partie antérieure de l'abdomen, où il permet la différenciation des premiers segments abdominaux, *Antennapedia* (*Antp*) qui régule les différenciations thoraciques s'exprime alors dans ces segments où il est normalement réprimé et commande le développement de structures thoraciques supplémentaires dans l'abdomen.

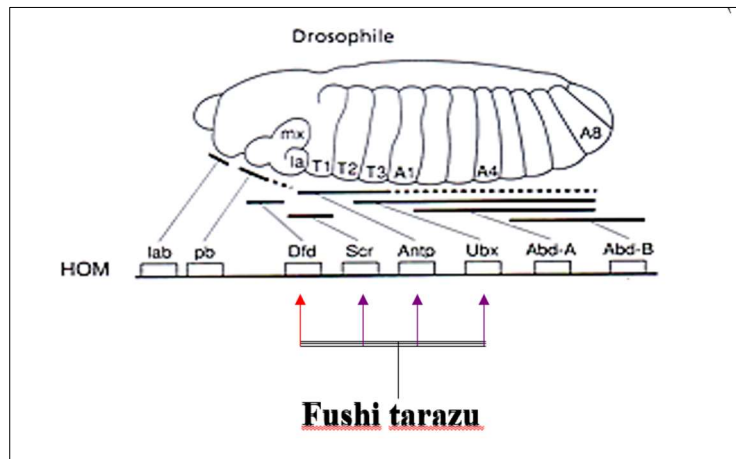


Figure 74: Représentation des domaines d'expression des homéogènes du complexe hox (Gilbert., 2004)

1.4 Complexe *antennapedia*

Ce complexe regroupe cinq gènes homéotiques portés par le chromosome 3, ils déterminent les structures de la tête et l'identité des deux premiers segments thoraciques. Le mutant *antennapedia* a des pattes à la place des antennes, le gène *antennapedia* s'exprime alors dans un territoire trop antérieur et transforme les antennes en pattes.

Le complexe Antennapedia est constitué de cinq gènes homéobox (Figure 75):

- *Labial* (Lab) et proboscidea (Pb) – partie de la tête
- *Deformed* (Dfd)– mutation affecte les parasegments 0 et 1
- *Sex combs reduced* (Scr) - mutation affecte les parasegments 2 et 3
- *Antennapedia* (Antp) – mutation affecte les parasegments 4 et 5

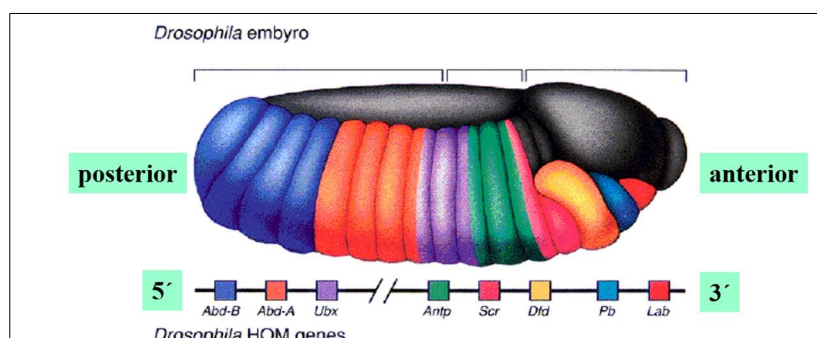


Figure 75: Structure du complexe *Antennapedia* de drosophile (https://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Developmental_Biology1-Drosophila.htm)

Un même gène homéotique peut exercer des contrôles différents. Certains gènes homéotiques ont plusieurs promoteurs et des sites d'initiation de la transcription qui sont activés par des protéines régulatrices qui diffèrent suivant les régions de l'embryon. Le gène *Antennapedia* a deux produits de transcription (Figure 76) :

- L'un dont la transcription est activée, à partir du 1er promoteur, par la protéine régulatrice codée par *Krüppel*. Cette transcription est supprimée par la protéine régulatrice codée par *Ultrabithorax*.
- L'autre dont la transcription est activée par deux protéines régulatrices codées par les gènes *hunchback* et *fushi tarazu* ; elle est inhibée par la protéine codée par *oskar*.
- Finalement, la protéine Antennapedia produite dans les deux voies est la même mais ses effets seront différents, car les gènes régulateurs ci-dessus ne s'expriment pas dans les mêmes ébauches embryonnaires : dans le premier cas, la protéine Antennapedia intervient dans le développement du thorax dorsal et, dans le second cas dans le développement du thorax ventral, la différenciation des pattes, et la viabilité de l'embryon.

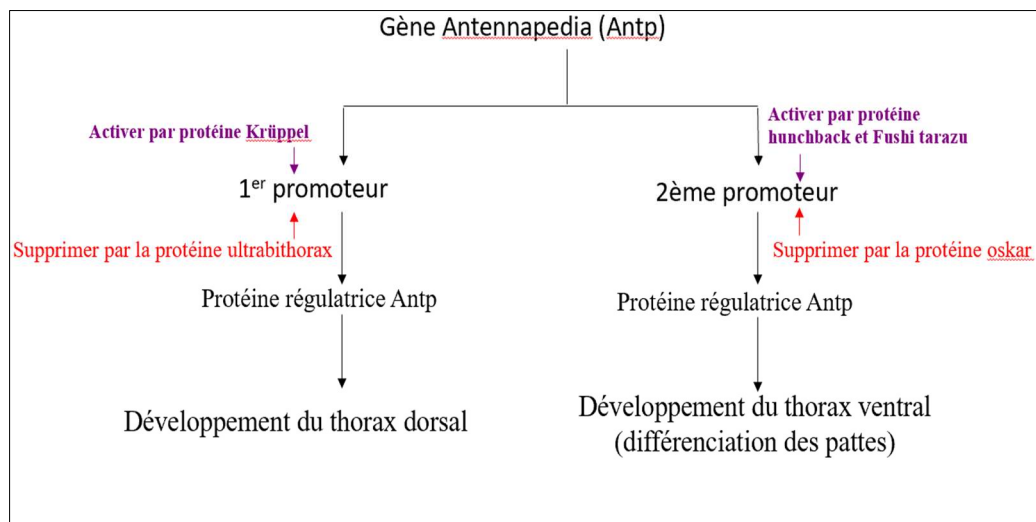


Figure 76: Régulation de l'expression du gène *antennapedia* (Gilbert., 2004)

1.6 Complexe *bithorax*

Le complexe *bithorax* est localisé sur le bras droit du troisième chromosome, et il contient au moins neuf gènes homéotiques. L'analyse génétique a permis de le diviser en trois domaines : *ultrabithorax (ubx)*, *abdominal-A (abd-A)*, et *abdominal-B (abd-B)*. Les délétions du complexe *ultrabithorax* transforment les parasegments 5 à 13 en neuf parasegments de type 4 (ce qui transforme le 3^{ème} segment thoracique T3 en deuxième segment thoracique T2). C'est ainsi que le gène *Ultrabithorax* réprime *Antennapedia*. Une délétion de *Ultrabithorax* permet à *Antennapedia* de s'exprimer dans le domaine où il est déficient ; il en résulte la formation d'ailes dans le troisième segment thoracique (Figure 77).

Certains gènes homéotiques peuvent produire plusieurs protéines régulatrices par le jeu d'épissage alternatif. *Ultrabithorax* produit ainsi deux protéines différentes, mais dont les spécificités se superposent partiellement. Au stade de passage entre la 2^{ème} et la 3^{ème} mue, elles transforment toutes deux une antenne en patte. En revanche, à un stade plus jeune, une seule de ces protéines est importante dans la détermination de l'identité des parasegments.

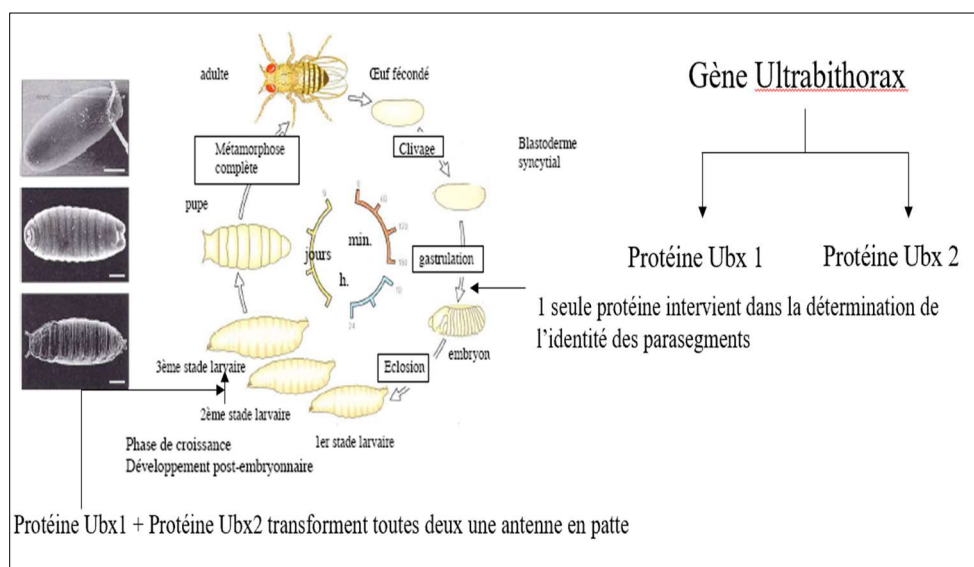


Figure 77: Régulation du gène *ultrabithorax* drosophile (Gilbert., 2004)

1.7 Caractéristiques des gènes homéotiques

Les gènes homéotiques partagent certaines caractéristiques très conservées au cours de l'évolution chez toutes les espèces du règne animal. Parmi ces caractéristiques, on observe que les gènes situés en 3' sur le chromosome, s'expriment les premiers dans le temps et dans l'espace (dans la région antérieure). De plus, les gènes du complexe bithorax, chaque gène a une frontière antérieure d'expression, mais il n'a pas de limite postérieure, et chaque nouveau gène qui s'exprime dans un segment ne s'est pas exprimé dans les segments antérieurs, mais s'exprimera dans tous les segments qui lui sont postérieurs (règle de Lewis), ainsi le nombre de gènes exprimés dans chaque cellule informe sur sa position dans l'axe antéro-postérieur, et le segment le plus abdominal va exprimer tous les gènes du complexe.

1.7.1 Règle de colinéarité

Elle concerne l'ordre dans lequel les gènes sont localisés sur le chromosome de 3' vers 5' est identique à l'ordre dans lequel se succèdent les aires anatomiques où ils s'expriment de la tête vers la queue (Figure 78). En effet, les gènes situés en 3' sur le chromosome, s'expriment les premiers dans le temps et dans l'espace (dans la région antérieure). De ce fait, les gènes homéotiques exercent entre eux un contrôle de leur domaine d'activité respectif. Ainsi, chaque gène est inhibé en direction postérieure par la protéine régulatrice codée par celui qui le suit.

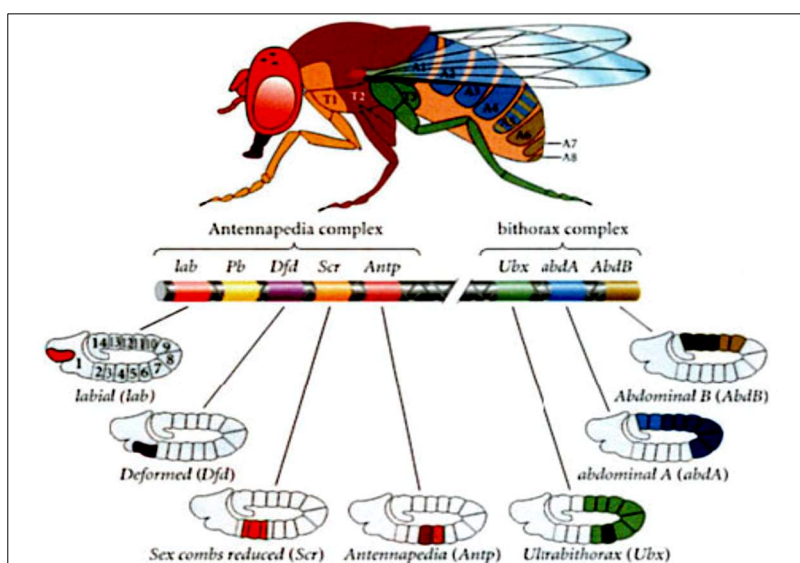


Figure 78: Règle de colinéarité chez la drosophile (Gilbert., 2004)

1.7.2 Règle de Lewis

Concernant les gènes du complexe bithorax, chaque gène a une frontière antérieure d'expression, mais il n'a pas de limite postérieure, un nouveau gène qui s'exprime dans un segment ne s'est pas exprimé dans les segments antérieurs, mais s'exprimera dans tous les segments qui lui sont postérieurs (règle de Lewis).

1.7.3 Notion de combinatoire génique

L'identité relative des cellules le long de l'axe antéro-postérieur résulte de la combinaison d'expression de gènes régulateurs à homéodomains, l'identité d'un segment est dictée par le gène homéotique dont le domaine d'expression est le plus postérieur, c'est la prévalence postérieure (Figure 79).

Le nombre de gènes exprimés dans chaque cellule informe sur sa position dans l'axe antéro-postérieur. Le segment le plus abdominal va exprimer tous les gènes du complexe.

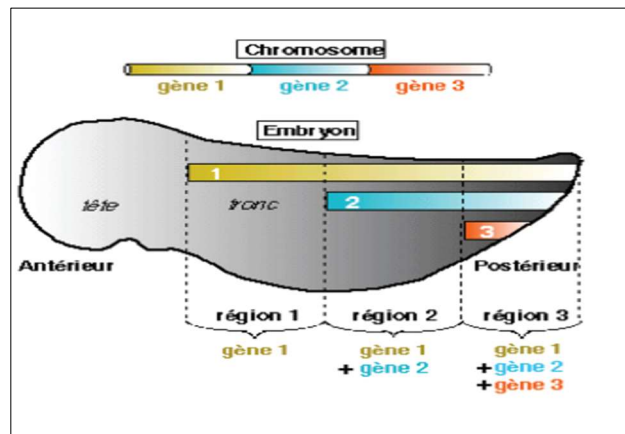


Figure 79: Notion de combinatoire génique (Gilbert., 2004)

2. Gènes homéotiques chez les vertébrés

Il existe bien entendu des équivalents des gènes homéotiques chez tous les animaux. On a ainsi pu trouver un ancêtre commun à tous les organismes, qui présentait une combinatoire de gènes homéotiques. On a également pu trouver des gènes homéotiques chez les végétaux, et les homéodomains hélice-tour-hélice se retrouvent également. On a d'autre part essayé de déterminer la combinaison minimale de gènes homéotiques pour obtenir un animal fonctionnel, appelé zootype.

Cette recherche du zootype est intéressante puisque tous les organismes vivants présentent les mêmes gènes homéotiques.

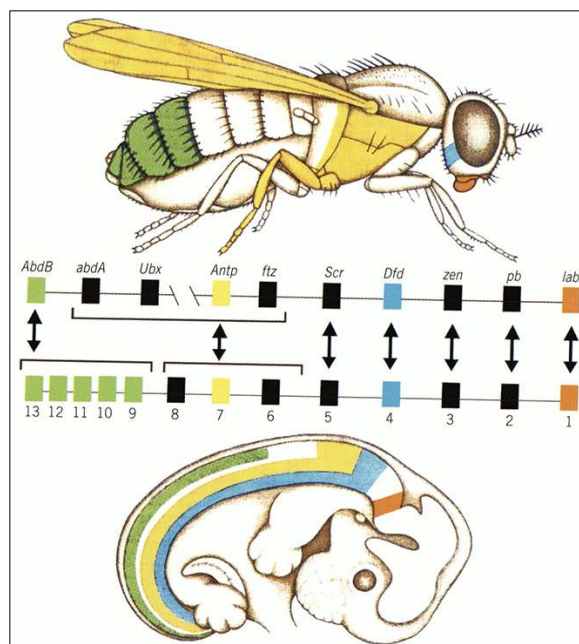


Figure 80: Colinéarité de l'arrangement des gènes homéotiques sur le chromosome et de leur expression le long de l'axe antéro-postérieur du corps chez la drosophile et l'embryon de souris (<http://books.openedition.org/mnhn/docannexe/image/2025/img-4.jpg>)

Par un crible du génome des Vertébrés, on a pu retrouver les équivalents des gènes homéotiques de la drosophile, et on les a appelés gènes *hox* (Figure 80). L'évolution de ces gènes a été complexe puisqu'on a eu des phénomènes de duplication, pour cela, on retrouve quatre groupes de gènes *hox*, situés sur quatre chromosomes différents. Ces quatre groupes sont appelés orthologues A, B, C et D, et à l'intérieur, on va retrouver les gènes classiques (*ant*, *ubx*...) mis ils ne sont pas séparés par plusieurs mégabases.

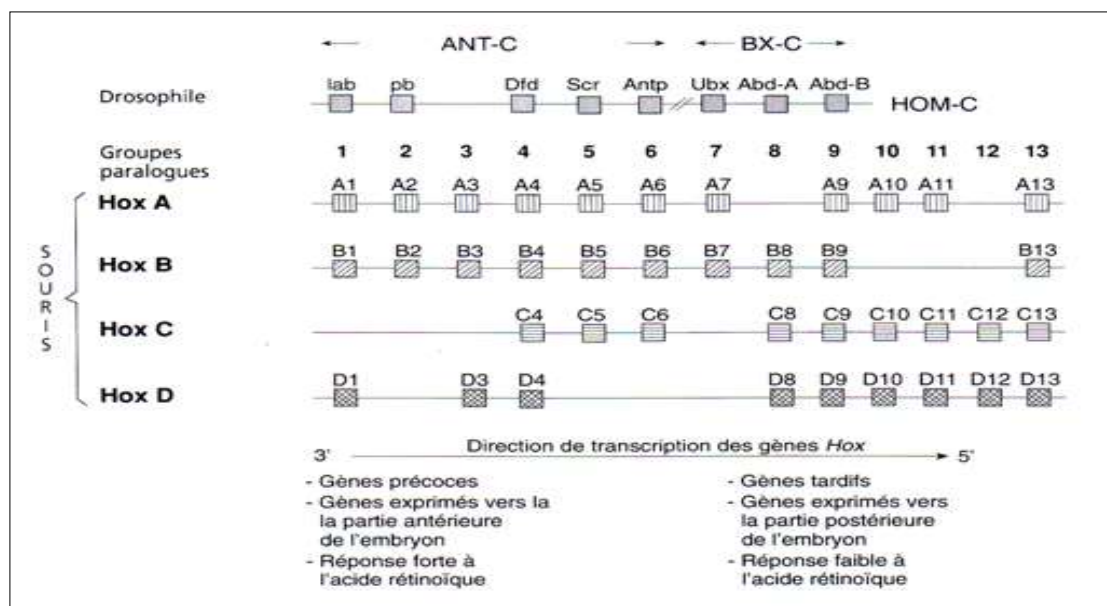


Figure 81 : Carte de répartition des gènes régulateurs homéotiques de la drosophile et d'un vertébré (Gilbert., 2004). *En haut* : complexe *Hom-C*, sur le chromosome 3 de la drosophile regroupant les complexes des gènes *Antennapedia (ANT-C)* et *Bithorax (BX-C)*. *En bas* : Représentation cartographique des 4 complexes *Hox*: A, B, C, D portés par 4 chromosomes différents. On distingue 13 groupes parallèles ; les gènes *HOM* et *Hox* appartenant à un même groupe paralogue présentent de fortes homologies.

Dans chacun des orthologues, on retrouve de 9 à 13 paralogues notés A_i , mais on ne retrouve pas systématiquement les 13 dans chaque orthologue. Les séquences codantes comme les séquences intermédiaires sont très conservées chez tous les Vertébrés, ainsi les gènes 3' s'expriment toujours dans la partie la plus antérieure et les gènes 5' dans la partie la plus postérieure. En effet, les premiers somites qui s'expriment synthétisent les gènes homéotiques de type 1, et on a donc bien une colinéarité (et on a aussi des phénomènes de dominance postérieure) (Figure 82).

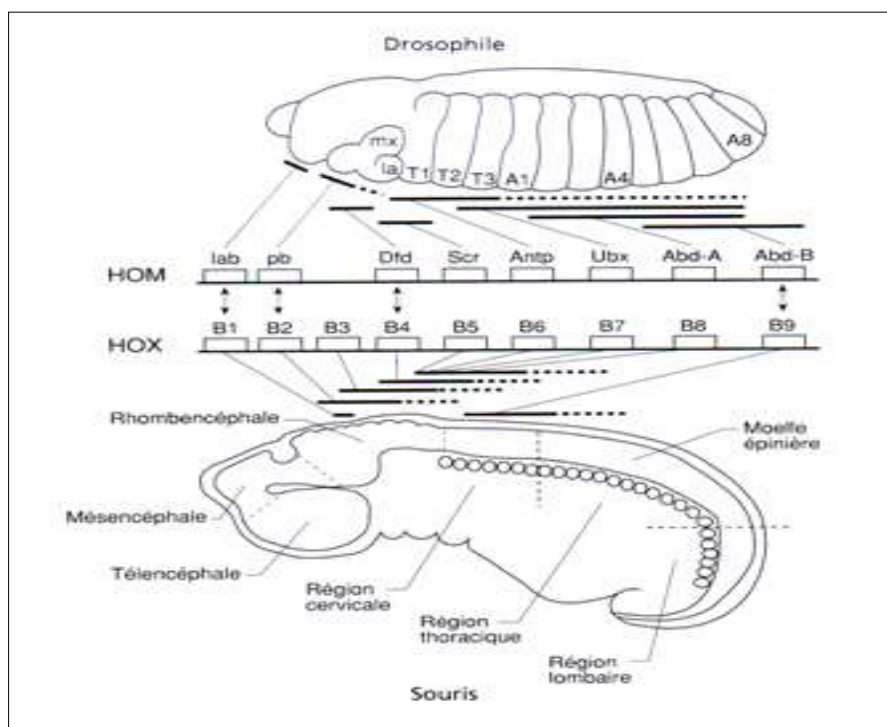


Figure 82: Représentation des domaines d'expression des homéogènes du complexe HOM de la drosophile, et de HOXB de la souris (Gilbert., 2004). Les gènes paralogues sont exactement superposés sur les deux cartes. On constate que, pour chaque gène, la limite d'expression va en diminuant vers la région caudale. Pour une région donnée du corps, plusieurs gènes homéotiques peuvent s'exprimer, avec parfois des degrés d'intensité différente.

Chez la drosophile, tous les métamères sont mis en place en même temps, mais c'est un cas assez particulier car d'ordinaire, la mise en place est chronologique. Les gènes 3' s'expriment en 1^{er} et la colinéarité se fait donc sur trois plans : de 3' vers 5', de la partie antérieure vers la partie postérieure, de l'expression précoce vers l'expression tardive. Finalement, un gène homéotique doit s'exprimer au bon endroit et au bon moment.

On a pu étudier l'expression des gènes par hybridation in situ : on a ainsi pu voir que l'on a un gradient d'expression tout comme chez la drosophile, mais les orthologues de même type (A1 et B1, A5 et C5...) s'expriment au même niveau. Cependant, il est évident que tous les Vertébrés ne présentent pas la même morphologie : ainsi le poulet a un cou plus long que la souris, alors que cette dernière a une queue beaucoup plus longue que le poulet. On s'est donc demandé si cela se traduisait par une différence dans le nombre de gènes homéotiques...

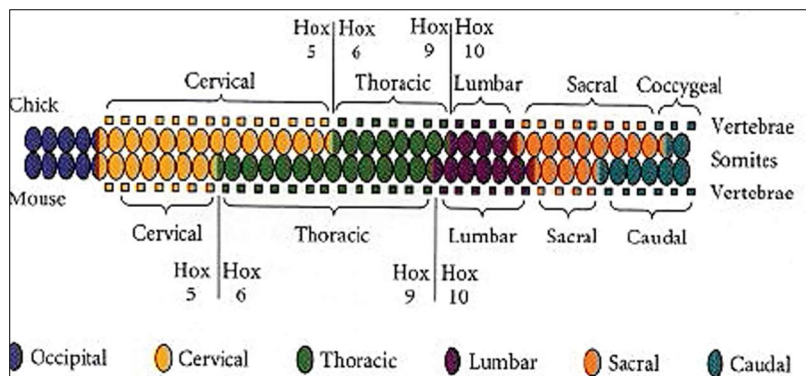


Figure 83: Représentation schématique des vertébrés le long de l'axe antéro-postérieur chez la souris et le poulet et limites antérieures d'expression de certains gènes Hox (Burke et al.,1995)

3. Conservation des gènes homéotiques au cours de l'évolution

Il faut noter une très grande conservation de ces gènes Hom/hox (Drosophile/mammifères) :

- Conservation de séquences (homéoboîte), de la structure protéique (homéodomaine), de l'organisation génique sur le complexe (puisque les complexes dérivent du même complexe ancestral)
- Conservation du mode d'expression (tous ces gènes s'expriment selon des territoires chevauchants, avec une frontière antérieure colinéaire à la position des gènes sur le complexe)
- Conservation de fonction : ils déterminent tous une identité de position aux cellules dans l'embryon.

Références bibliographiques

- Akam (Michael), Dawson (Iain), Tear (Guy), “Homeotic genes and the control of segment diversity”, art. cit., p. 128.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K et Watson J.D. (1995). *Biologie moléculaire de la cellule*. (4^{ème} édition 2004), Médecine Sciences, Flammarion, Paris.
- Arendt (Detlev), Nübler-Jung (Katharina), “Comparison of early nerve cord development in insects and vertebrates”, *Development*, vol. 126, 1999, pp. 2309-2325.
- Bally-Cuif L. *Les gènes du développement*. Collection « Masson Sciences », Dunod, Paris 1995.
- Batonnet-Pichon S, Tintignac LJ, Castro A, Sirri V, Leibovitch MP, Lorca T & Leibovitch SA (2006) MyoD undergoes a distinct G2/M-specific regulation in muscle cells. *Exp Cell Res* 312, 3999–4010.
- Beaumont A, Hourdry J, Vernier J.M, et Wegnez M. *Développement*. Dunod, Paris 1994.
- Beeman (Richard W.), “A Homoeotic gene cluster in the red Hour beetle”, *Nature*, vol. 327, 1987, pp. 247-249.
- Bender (Welcome), Akam (Michael), Karch (François), Beachy (Philip A.), Peifer (Mark), Spierer (Pierre), Lewis (Edward B.), Hogness (David S.), “Molecular genetics of the bithorax complex in *Drosophila melanogaster*”, *Science*, vol. 221, 1983, pp. 23-29.
- Berleth (T.), Burri (M.), Thoma (G.), Bopp (D.), Richstein (S.), Frigerio (G.), Noll (M.), Nüsslein-Volhard (Christiane), “The Role of localisation of bicoid RNA in organising the anterior pattern of the *Drosophila* embryo”, *EMBO Journal*, vol. VII, 1988, pp. 1749-1756.
- Bi P, Ramirez-Martinez A, Li H, Cannavino J, McAnally JR, Shelton JM, Sánchez-Ortiz E, Bassel-Duby R, Olson EN. Control of muscle formation by the fusogenic micropeptide myomixer. *Science* 2017; 356:323–7.
- Blaudin de Thé, François-Xavier. (2015). *Engrailed, an anti-ageing homeoprotein*.

- Cadot B, Gache V, Gomes ER. Moving and positioning the nucleus in skeletal muscle – one step at a time. *Nucleus* 2015; 6:373–81.
- Cadot B, Gache V, Vasyutina E, Falcone S, Birchmeier C, Gomes ER. Nuclear movement during myotube formation is microtubule and dynein dependent and is regulated by Cdc42, Par6 and Par3. *EMBO reports* 2012; 13:741–9.
- Cadot Bruno. La différenciation des cellules musculaires striées squelettiques. *Planet vie*. 2018.
- Carrasco (Andrés E.), McGinnis (William), Gehring (Walter J.), De Robertis (Eddy), “Cloning of an *X. laevis* gene expressed during early embryogenesis coding for a peptide region homologous to *Drosophila* homeotic genes”, *Cell*, vol. 37, 1984, pp. 409-414.
- Catala M. Embryologie. Développement précoce chez l’humain. Collection «Abrégés», Masson, Paris 2003.
- Chakkalakal JV, Christensen J, Xiang W, Tierney MT, Boscolo FS, Sacco A, Brack AS. Early forming label-retaining muscle stem cells require p27kip1 for maintenance of the primitive state. *Development* 2014; 141:1649–59.
- Chanoine C. Bases cellulaires et moléculaires du développement. Ellipses, Paris 2007.
- Christian Sardet, François Prodon. *BioMarCell*, Villefranche-sur-Mer 2004.
- Collenot A et Signoret J. L’organisme en développement. La construction de l’adulte. Hermann, Paris 2000.
- Culture cellulaire animale et végétale, d’Antoine Campeau-Péloquin et Sophie Roy. 2019.
- Darbo, Elodie. (2011). Identification of cis-regulatory elements involved in zygotic genome activation in *Drosophila melanogaster* early embryo.
- Darribère T. Introduction à la biologie du développement. Collection Sup, Belin, Paris 2002.
- Delarue, M., Sanchez, S., Johnson, K.E., Darribère, T., and Boucaut, J.C. (1992). A fate map of superficial and deep circumblastoporal cells in the early gastrula of *Pleurodeles waltl*. *Development*, 114: 135-146.

- Denis Thieffry et Hidde De Jong. Modélisation, analyse et simulation des réseaux génétiques. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 492–502.
- Desponds J, Vergassola M, Walczak AM. A mechanism for hunchback promoters to readout morphogenetic positional information in less than a minute. *Elife*. 2020;9:e49758.
- Devos L et Van Gansen P. Atlas d'embryologie des Vertébrés. Masson, Paris 1980.
- DiFrisco, James & Mossio, Matteo. (2020). Diachronic Identity in Complex Life Cycles: An Organizational Perspective. 10.4324/9781351066389-10.
- Dix DJ, Eisenberg BR. Myosin mRNA accumulation and myofibrillogenesis at the myotendinous junction of stretched muscle fibers. *J Cell Biol* 1990; 111:1885–94.
- Doucet C, Gutierrez GJ, Lindon C, Lorca T, Lledo G, Pinset C & Coux O (2005) Multiple phosphorylation events control mitotic degradation of the muscle transcription factor Myf5. *BMC Biochem* 6, 27.
- Duncan (Ian W.), Kaufman (Thomas C.), “Cytogenetic analysis of chromosome 3 in *Drosophila melanogaster* : mapping of the proximal portion of the right arm”, *Genetics*, vol. 80, 1975, pp. 733-752.
- Fischbach GD, Cohen SA. The distribution of acetylcholine sensitivity over uninnervated and innervated muscle fibers grown in cell culture. *Developmental biology* 1973; 31:147–162.
- Florence B, Guichet A, Ephrussi A, Laughon A. Ftz-F1 is a cofactor in Ftz activation of the *Drosophila engrailed* gene. *Development*. 1997;124(4):839-847.
- Friedl P, Wolf K. Plasticity of cell migration : a multiscale tuning model. *J Cell Biol* 2010 ; 188 : 11–19.
- Frohnhöfer (Hans-Georg), Nüsslein-Volhard (Christiane), “Organization of anterior pattern in the *Drosophila* embryo by the maternal gene bicoid”, *Nature*, vol. 324, 1986, pp. 120-125.

- Fukada S, Uezumi A, Ikemoto M, Masuda S, Segawa M, Tanimura N, Yamamoto H, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S. Molecular Signature of Quiescent Satellite Cells in Adult Skeletal Muscle. *STEM CELLS* 2007; 25:2448–59.
- Garber (Richard L.), Kuroiva (Atsushi), Gehring (Walter J.), “Genomic and cDNA clones of the homeotic locus of Antennapedia in Drosophila”, *EMBO Journal*, vol. II, 1983, pp. 2027-2036.
- Gehring (Walter J.), “The Homeo box : a key to the understanding of development ?”, *Cell*, vol. 40, 1985, pp. 3-5.
- Gehring (Walter J.), *Master Control Genes in Development and Evolution*, New Haven : Yale University Press, 1998.
- Gehring (Walter J.), Qian (Yanqiu), Billeter (Martin), Furukubo-Tokunaga (K.), Schier (A. F.), Resendez-Perez (D.), Affolter (Markus), Otting (Gottfried), Wüthrich (Karl), “Homeodomain-DNA recognition”, *Cell*, vol. 78, 1994, pp. 211-223.
- Gehring W. *Biologie et Physiologie animales*. De Boeck Université, Bruxelles 1999.
- Gilbert (Scott F.), *Developmental Biology*, 5eme éd., Sunderland : Sinaucr, 1997, pp. 914-915.
- Gilbert S.F. *Biologie du développement*. (Traduction de la 7^e éd. 1994) De Boeck Université, Bruxelles 2003.
- Gilbert S.F. *Biologie du développement*. DeBoeck Université, Bruxelles, 836 p., 2004
- Gilbert S.F. *Developmental Biology*. (8^{ème} édition). Sinauer Associates Publisher, Sunderland 2006.
- Gimpel P, Lee YL, Sobota RM, Calvi A, Koullourou V, Patel R, Mamchaoui K, Nédélec F, Shackleton S, Schmoranzler J, et al. Nesprin-1 α -Dependent Microtubule Nucleation from the Nuclear Envelope via Akap450 Is Necessary for Nuclear Positioning in Muscle Cells. *Current Biology* 2017; 27:2999-3009.e9.

- Grenier (Jennifer K.), Garber (Theodore L), Warren (Robert), Whitington (Paul M.), Carroll (Sean), “Evolution of the entire arthropod Hox gene set predated the origin and radiation of the onychophoran/arthropod clade”, *Current Biology*, vol. VII, 1997, pp. 547-553.
- Hafen (Ernst), Kuroiva (Atsushi), Gehring (Walter J.), “Spatial distribution of transcripts from the segmentation gene *fushi tarazu* during *Drosophila* embryonic development”, *Cell*, vol. 37, 1984, pp. 833-841.
- Heath E. Johnson, Nareg J.V. Djabrayan, Stanislav Y. Shvartsman, Jared E. Toettcher, Optogenetic Rescue of a Patterning Mutant, *Current Biology*, Volume 30, Issue 17, 2020, Pages 3414-3424.e3.
- Heath E. Johnson, Nareg J.V. Djabrayan, Stanislav Y. Shvartsman, Jared E. Toettcher, Optogenetic Rescue of a Patterning Mutant, *Current Biology*, Volume 30, Issue 17, 2020, Pages 3414-3424.e3.
- Hosoyama T, Nishijo K, Prajapati SI, Li G, Keller C. Rb1 gene inactivation expands satellite cell and postnatal myoblast pools. *J Biol Chem* 2011; 286:19556–64.
- Houillon Ch. - Embryologie - Hermann, Paris, 184 p., 1979
- Irvine KD, Wieschaus E. Cell intercalation during *Drosophila* germband extension and its regulation by pair-rule segmentation genes. *Development*. 1994;120(4):827-841.
- J M Jones, J A Thomson. Human embryonic stem cell technology. *Semin Reprod Med*. 2000;18(2):219-23.
- Jacob (François), “Evolution and tinkering”, *Science*, vol. 196, 1977, pp. 1161-1167.
- Karen G. Hales, Christopher A. Korey, Amanda M. Larracuenta, and David M. Roberts. *Genetics on the Fly: A Primer on the Drosophila Model System*. *Genetics*. 2015 Nov; 201(3): 815–842.
- Kitzmann M, Carnac G, Vandromme M, Primig M, Lamb NJ & Fernandez A (1998) The muscle regulatory factors MyoD and myf-5 undergo distinct cell cycle-specific expression in muscle cells. *J Cell Biol* 142, 1447–1459.

- Kotadia, Shaila, Justin Crest, Uyen Tram, Blake Riggs and William Sullivan. “Blastoderm Formation and Cellularisation in *Drosophila melanogaster*.” (2010).
- Kuang S, Kuroda K, Le Grand F, Rudnicki MA. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell* 2007; 129:999–1010.
- Lamoreux ML, Delmas V, Larue L, Bennett D. The colors of mice: a model genetic network. Wiley-Blackwell, 2010.
- Larue L, Kumasaka M, Goding CR. Beta-catenin in the melanocyte lineage. *Pigment Cell Res* 2003 ; 16 : 312–317.
- Laughon (Allen), Scott (Matthew P.), “Sequence of a *Drosophila* segmentation gene : protein structure homology with DNA-binding proteins”, *Nature*, vol. 310, 1984, pp. 25-31.
- Laydi, F.E. *Chemistry* (2013). Effet de la nature des biomatériaux sur la différenciation des cellules souches mésenchymateuses.
- Le Moigne A., Foucrier J. - *Biologie du développement* - Dunot, Paris, 414 p., 2009.
- Lewis Wolpert, Cheryll Tickle, Alfonso Martinez Arias. *Biologie du développement : Les grands principes*, 2017.
- Li A, Ma Y, Yu X, *et al*. Rac1 drives melanoblast organization during mouse development by orchestrating pseudopod-driven motility and cell-cycle progression. *Dev Cell* 2011 ; 21 : 722–734.
- Lindon C, Montarras D & Pinset C (1998) Cell cycleregulated expression of the muscle determination factor Myf5 in proliferating myoblasts. *J Cell Biol* 140, 111–118.
- Loïc Reppel. *L’utilisation des cellules souches en thérapie cellulaire et en ingénierie tissulaire : Nouvelle approche thérapeutique ? Application à l’ingénierie du cartilage*. Sciences pharmaceutiques. 2011.
- Luciani F, Champeval D, Herbette A, *et al*. Biological and mathematical modeling of melanocyte development. *Development* 2011 ; 138 : 3943–3954.

- Marieb E. N. - Anatomie et physiologie humaines - De Boeck Université, Saint-Laurent, 1054 p., 1993
- Martinez-Arias (Alfonso), Lawrence (Peter A.), “Parasegments and compartments in the Drosophila embryo”, *Nature*, vol. 313, 1985, pp. 639-642 ; Lawrence (Peter A.), “The Present status of the parasegment”, *Development*, vol. 104 (suppl.), 1988, pp. 61-65.
- McGinnis (William), Garber (Richard L.), Wirz (Johannes), Kuroiwa (Atsushi), Gehring (Walter J.), “A Homologous protein-coding sequence in Drosophila homeotic genes and its conservation in other metazoans”. *Cell*, vol. 307, 1984, pp. 403-408.
- McGinnis (William), Hart (C. P.), Gehring (Walter J.), Ruddle (Frank H.), “Molecular cloning and chromosome mapping of a mouse DNA sequence homologous to homeotic genes of Drosophila”, *Cell*, vol. 38, 1984, pp. 675-680.
- McGinnis (William), Levine (Michael), Hafen (Ernst), Kuroiwa (Atsushi), Gehring (Walter J.), “A Conserved DNA sequence found in homeotic genes of the Drosophila Antennapedia and bithorax complexes”, *Nature*, vol. 308, 1984, pp. 428-433.
- Megeney LA, Kablar B, Garrett K, Anderson JE & Rudnicki MA (1996) MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. *Genes Dev* 10, 1173–1183.
- Merlie JP, Sanes JR. Concentration of acetylcholine receptor mRNA in synaptic regions of adult muscle fibres. *Nature* 1985; 317:66–8.
- Metzger T, Gache V, Xu M, Cadot B, Folker ES, Richardson BE, Gomes ER, Baylies MK. MAP and kinesin-dependent nuclear positioning is required for skeletal muscle function. *Nature* 2012; 484:120–4.
- Navarro, Muriel et Thérond, Pascal « Un dénominateur commun aux voies de signalisation Hedgehog et Wingless ». *M/S : médecine sciences* 18, no 12 (2002) : 1193–1194.

- Nüsslein-Volhard (Christiane), Frohnhöfer (Hans-Georg), Lehmann (Ruth), “Determination of anteroposterior polarity in *Drosophila*”, *Science*, vol. 238, 1987, pp. 1675-1681.
- Pavlath GK, Rich K, Webster SG, Blau HM. Localization of muscle gene products in nuclear domains. *Nature* 1989; 337:570–3.
- Ralston E, Hall ZW. Transfer of a protein encoded by a single nucleus to nearby nuclei in multinucleated myotubes. *Science* 1989; 244:1066–9.
- Robelin J. Différenciation, croissance et développement cellulaire du tissu musculaire. *Productions Animales*, 1990, 3 (4), pp.253-263.
- Roman W, Martins JP, Carvalho FA, Voituriez R, Abella JVG, Santos NC, Cadot B, Way M, Gomes ER. Myofibril contraction and crosslinking drive nuclear movement to the periphery of skeletal muscle. *Nature Cell Biology* 2017; 19:1189–201.
- Ronald P. Kühnlein, Günter Brönner, Heike Taubert, Reinhard Schuh, Regulation of *Drosophila* spalt gene expression, *Mechanisms of Development*, Volume 66, Issues 1–2, 1997, Pages 107-118.
- Roque, A. “Détermination neurale et neuronale : implication des protéines de la superfamille Snail dans le lignage des soies mécanosensorielles chez la drosophile.” (2014).
- Rosenzweig M.R., Leiman A.L., Breedlove S.M. - *Psychobiologie* - DeBoeck Université, Bruxelles, 849 p., 1998.
- Rouch, R. The hyporheic crustacean assemblage from a Pyrenean brook. *Annales de limnologie*, 1995, Volume 31, Numéro 1.
- Rudnicki MA, Schlegelsberg PNJ, Stead RH, Braun T, Arnold H-H, Jaenisch R. MyoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle. *Cell* 1993; 75:1351–9.
- Sabeh F, Shimizu-Hirota R, Weiss SJ. Protease-dependent versus-independent cancer cell invasion programs : three-dimensional amoeboid movement revisited. *J Cell Biol* 2009 ; 185 : 11–19.

- Samee, Abul Hassan Sinha, Saurabh, Quantitative Modeling of a Gene's Expression from Its Intergenic Sequence. PLoS computational biology. 2014; 10(3):e1003467.
- Sánchez-Herrero (E.), Vernós (I.), Marco (R.), Morata (Ginés), “Genetic organization of Drosophila bithorax complex”, Nature, vol. 313, 1985, pp. 108-113.
- Sanz-Moreno V, Gadea G, Ahn J, *et al.* Rac activation and inactivation control plasticity of tumor cell movement. Cell 2008 ; 135 : 510–523.
- Schaerlinger Bérénice : 2004. Rôle de la sérotonine dans le développement embryonnaire précoce de Drosophila melanogaster : Etude d'un mutant ponctuel du récepteur 5-HT2Dro. (Thèse : Docteur de l'Université Louis Pasteur de STRASBOURG Mention Biologie Moléculaire et Cellulaire).
- Schüpbach (Trudi), Wieschaus (Eric), “Maternal-effect mutations altering the anterior-posterior pattern of the Drosophila embryo”, Wilhelm Roux's Archives of Developmental Biology, vol. 195, 1986, pp. 302-317.
- Scott (Matthew P.), Weiner (AmyJ.), Harellrigg (T. I.), Polisky (Barry A.), Pirrotta (V.), Scalenghe (F.), Kaufman (Thomas C.), “The Molecular organization of the Antennapedia locus in Drosophila”, Cell, vol. 35, 1983, pp. 763-776.
- Scott F. Gilbert. Developmental Biology, Tenth Edition 10th Edition. 2014.
- Singh N, Morlock H, Hanes SD. The Bin3 RNA methyltransferase is required for repression of caudal translation in the Drosophila embryo. Dev Biol. 2011;352(1):104-115.
- SLACK (J.), 2004. – Biologie du développement (Traduction de la 1re édition anglaise, 2001). De Boeck, Bruxelles.
- Slack (Jonathan M.), Holland (P. W. H.), Graham (F. C), “The Zootype and the phylotypic stage”, Nature, vol. 361, 1993, pp. 490-492.
- Slack (Jonathan), “A Rosetta stone for pattern formation in animals ?”, Nature, vol. 310, 1984, pp. 364-365.

- Slack (Jonathan), From Egg to Embryo. Regional Specification in Early Development, 2ème édition., Cambridge : Cambridge University Press, 1991, p. 217.
- Song A, Wang Q, Goebel MG & Harrington MA (1998) Phosphorylation of nuclear MyoD is required for its rapid degradation. *Mol Cell Biol* 18, 4994–4999.
- Sosinsky GE. Molecular organization of gap junction membrane channels. *J Bioenerg Biomembr.* 1996;28(4):297-309.
- Spradling AC. Germline cysts: communes that work. *Cell.* 1993;72(5):649-651.
- Struhl (Gary), Struhl (K.), Macdonald (P. M.), “The Gradient morphogen bicoid is a concentration-dependent transcriptional activator”, *Cell*, vol. 57, 1989, pp. 1259-1273.
- Tassin AM, Maro B, Bornens M. Fate of microtubule-organizing centers during myogenesis in vitro. *J Cell Biol* 1985; 100:35–46.
- Tassy (Pascal), L’Arbre à remonter le temps. Les rencontres de la systématique et de l’évolution, Paris : Bourgois, 1991, 352 p.
- Tautz D, Hancock JM, Webb DA, Tautz C, Dover GA. Complete sequences of the rRNA genes of *Drosophila melanogaster*. *Mol Biol Evol.* 1988;5(4):366-376.
- Tintignac LA, Leibovitch MP, Kitzmann M, Fernandez A, Ducommun B, Meijer L & Leibovitch SA (2000) Cyclin E-cdk2 phosphorylation promotes late G1-phase degradation of MyoD in muscle cells. *Exp Cell Res* 259, 300–307.
- Ustanina S, Carvajal J, Rigby P & Braun T (2007) The myogenic factor Myf5 supports efficient skeletal muscle regeneration by enabling transient myoblast amplification. *Stem Cells* 25, 2006–2016.
- Wen Y, Bi P, Liu W, Asakura A, Keller C, Kuang S. Constitutive Notch Activation Upregulates Pax7 and Promotes the Self-Renewal of Skeletal Muscle Satellite Cells. *Mol Cell Biol* 2012; 32:2300–11.
- Wolpert L. and coll - *Biologie du développement* - Dunot, Paris, 479 p., 2004.

Liens internet

1. <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/4091/differenciation-cellulaire>
2. <https://celluloyd.tumblr.com/post/155595863902/stades-de-diff%C3%A9renciation-des-cellules-souches-il>
3. <https://babygest.com/fr/implantation-des-embryons/blastocyste-2/>
4. <https://www.simplyscience.ch/fr/jeunes/geneabc/cellules-souches>
5. <https://www.alimentationvivante.com/cellules-souches-sante/>
6. https://www.editions-ellipses.fr/PDF/9782340047365_extrait.pdf
7. <https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/CoursPCEMDEUG/Lignage1.htm>
8. <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/4091/differenciation-cellulaire>
9. <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/8962/somite>
10. <https://mantispassion.com/2017/09/21/les-drosophiles/>
11. <https://www.salamandre.org/article/mouche-star-laboratoires/>
12. <https://quizlet.com/fr/550159783/chapitre-6-le-developpement-embryonnaire-chez-la-drosophile-flash-cards/>
13. <https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-3-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-expression-des-genes-maternels-618379007>
14. <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/8893/ovariole>
15. <https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/chapitre-1-le-developpement-embryonnaire-de-la-drosophile-les-etapes-du-developpement-embryonnaire-617853218>
16. <https://bastiani.biology.utah.edu/courses/3230/db%20lecture/lectures/a9FlyMaternal.html>
17. <https://fr.slideshare.net/ShreyaAhuja2/segmentation-in-drosophila-melanogaster>
18. https://cob.silverchaircdn.com/cob/content_public/journal/dev/127/14/10.1242_dev.127.14.2977/1/2977.pdf
19. https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Fichier:Wingless_and_Hedgehog_reciprocal_signaling_during_segmentation_of_Drosophila_embryos.svg
20. <https://interestingbiology.wordpress.com/2013/04/05/mutant-homeotique-la-mouche-dans-tous-ses-etats/>
21. <http://books.openedition.org/mnhn/docannexe/image/2025/img-4.jpg>