



HAL
open science

La fabrication d'un organisme; Le développement vu par la génétique.

Jean Francois Daniel Nicolas

► **To cite this version:**

Jean Francois Daniel Nicolas. La fabrication d'un organisme; Le développement vu par la génétique.. Maitrise. France. 2018. cel-01970748

HAL Id: cel-01970748

<https://hal.science/cel-01970748>

Submitted on 5 Jan 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

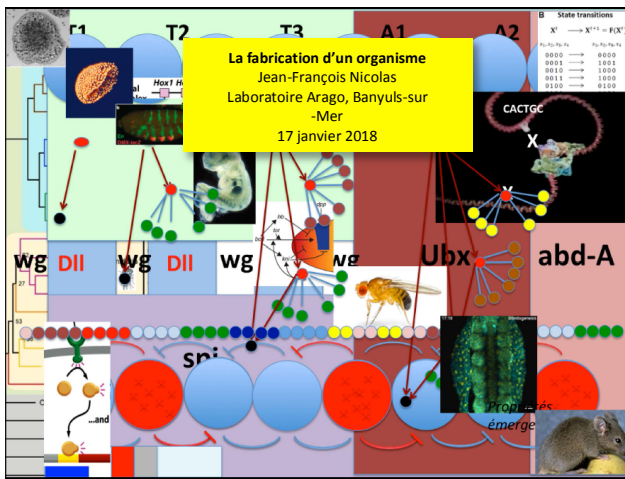
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La fabrication d'un organisme¹

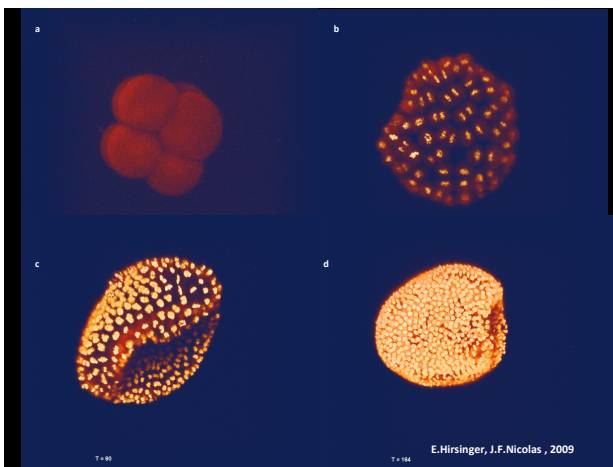
Jean-François Nicolas

Chercheur invité à l'Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France. : Email : jfdnicolas@yahoo.fr

Dans cette présentation il est question du développement embryonnaire. Vous apprendrez qu'entre 1985 et 2005 beaucoup des principes sur lesquels se base ce processus très complexe (sans doute le plus complexe de tous les processus connus dans notre univers) ont été élucidés. C'est la révolution de la biologie moléculaire, en particulier la possibilité de cloner les gènes c'est à dire d'isoler le fragment d'ADN qui leur correspond et de séquencer les génomes entiers, c'est à dire la totalité des gènes que les organismes ont, qui a permis cela. La plus grande surprise fut, peut-être, de constater que des organismes aussi différents que la mouche et l'homme utilisent pour leur développement les mêmes gènes qui étaient déjà présents chez leur ancêtre commun, il y a un demi-milliard d'années. C'est donc l'évolution qui est le fil conducteur du développement. Dans cette perspective il apparaît que la véritable nouveauté des développements ce furent les interactions entre cellules qui par les voies de signalisation relaient des signaux externes au réseau génétique. Elles sont à l'origine des territoires cellulaires dans lesquelles se déploie de nouveaux arrangements du réseau de régulation des gènes. Elles permettent donc la complexification et de l'embryon et du réseau génétique. L'analyse des processus du développement a renouvelé la génétique. On ne considère plus actuellement ni les gènes ni les protéines individuellement mais les gènes et les protéines dans les systèmes, les réseaux, de régulation et d'interactions dans lesquels ils se trouvent. (Conférence visible à <https://www.youtube.com/watch?v=k04qdhPGDMM>)

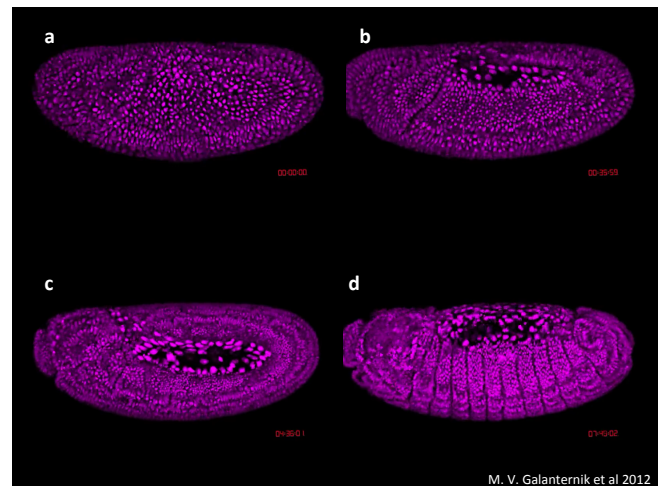


Diapositive 1: Les raisons de tout cela vous apparaitront, je l'espère, au cours de cette conférence. Situons tout d'abord le problème avec des films sur le développement de trois organismes très étudiés dans les laboratoires.



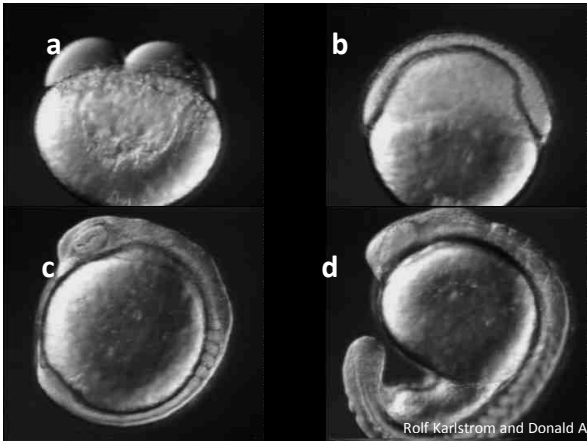
Diapositive 2: Les 12 premières heures du développement du représentant actuel de l'ancêtre des vertébrés, l'amphioxus. Le développement démarre d'une cellule unique, qui se divise (a) et donne rapidement 1000 cellules qui forment une sphère creuse (b, blastula) dont un hémisphère s'enfonce dans l'autre (c, invagination). La cavité interne ainsi formée se referme incomplètement tandis que l'embryon s'allonge

(d). L'invagination mets en contact les cellules des deux hémisphères de l'embryon. Il y a un feuillet externe et un feuillet interne. C'est la gastrulation une opération générale des développements. Le développement se poursuit après ce stade mais n'est plus facilement filmable. Référence du film : Estelle Hirsinger, Nadine Peyrieras et Jean-François Nicolas, 2009, voir aussi ¹.



Diapositive 3 : Voici maintenant le développement d'un insecte, la mouche drosophile entre 3h et 10 heures. L'œuf est d'emblée oblongue. A 3h il y a déjà 6000 cellules (a, blastoderme). A 10h apparaissent des éléments répétés, appelés segments, une partie rostrale la future tête formée de plusieurs segments, une partie caudale (d). C'est la structure de la première larve à la fin de gastrulation.

¹ Document n° 2018-12 and 12bis, Archives Biologie moléculaire du Développement, Conférence Grand Public donnée le 17 janvier 2018 au Laboratoire Arago, Banyuls-sur Mer, pour les Amis du Laboratoire Arago, invitante Anne-Marie Geneviere. Ce document digital a été produit par Jean-François Nicolas (janvier 2018). Les figures correspondent aux diapositives Email 2018 JFN: jfnicola@pasteur.fr et jfdnicolas@yahoo.fr Conférence visible à <https://www.youtube.com/watch?v=k04qdhPGDMM>



Rolf Karlstrom and Donald A.

Diapositive 4 : Enfin les 15 premières heures du développement du poisson zébré. L'œuf est beaucoup plus gros. Une partie seulement se divise dans une calotte (a). Les quelques milliers de cellules convergent (b) et l'embryon s'allonge (c, d) tandis qu'apparaissent la tête, les yeux, les muscles, la partie caudale, d'autres organes non visibles. En 15 heures l'organisme est quasiment formé.

Toutes ces actions ce sont ce qu'on appelle les opérations cellulaires du développement. Elles sont basées sur les comportements des cellules tels les divisions, leur orientation (polarisée ou non), leur vitesse ; la mobilité (adhésivité), les mouvements (dispersion, directionnalité, vitesse) ; leur changement de forme etc.

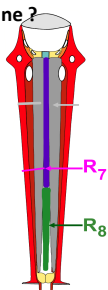
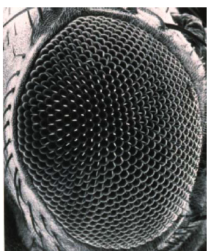


**Les Organismes :
Des ensembles d'organes.**



Diapositive 5 : Etonnamment ces développements sont extrêmement différents les uns des autres, difficilement comparables. Cependant ils aboutissent à des animaux qui partagent beaucoup de traits communs. La souris comme la drosophile présentent un dos un ventre, un avant un arrière, une symétrie bilatérale, elles exhibent des organes qui se ressemblent, têtes, yeux, pattes, auxquels sont associés une fonction : la vue, le mouvement. Comment se fait-il alors qu'avec des débuts si différents ils convergent vers une même forme ? Les évolutionnistes nous disent depuis le 19ème siècle que ces animaux sont reliés, qu'ils ont des ancêtres communs mais forts lointains. Ces lointains ancêtres communs est-ce la raison de ces ressemblances ? Si oui alors l'évolution est le fil conducteur qu'il faut suivre pour comprendre le développement. C'est l'option de cette présentation.

Qu'est ce qu'un Organe ?



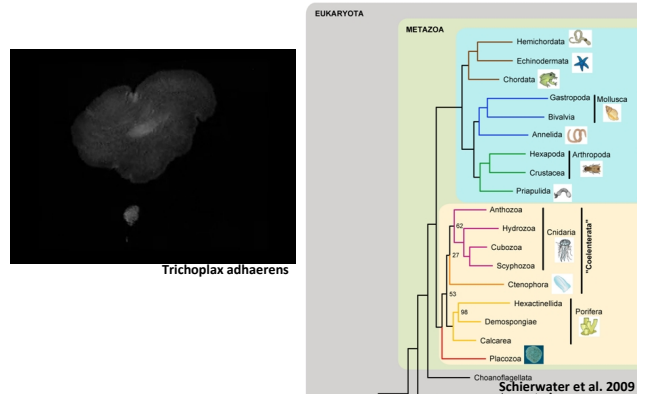
Les organes des ensembles de types cellulaires

Diapositive 6 : La première question est, qu'est-ce qu'un organe, cette unité liée à une fonction, qui caractérise les organismes ?

Prenons l'exemple de l'œil de la drosophile. Les ommatidies sont constituées de cellules, dont des cellules pigmentées et des cellules photoréceptrices qui captent des photons. Les organismes sont des ensembles d'organes, qui sont des ensembles de types cellulaires. Aux organes et aux types cellulaires sont associés des fonctions.

Mais alors quand dans l'évolution les types cellulaires et les organes sont-ils apparus ?

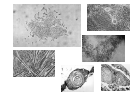
Mais d'où viennent les types cellulaires, les organes ?



Diapositive 7 : Chez les animaux les plus simples comme, *Trichoplax adhaerens*², un placozoaire (sans organisation même orale-aborale, le seul élément saillant de son plan d'organisation étant la définition d'un bord qui délimite un dessus et un dessous) ou les éponges on trouve des types cellulaires mais pas d'organes. Les vrais organes apparaissent un peu plus tard, avec les animaux qui présentent une symétrie bilatérale (les bilatériens),

Les trois problèmes du développement

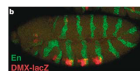
I. La différenciation cellulaire
a) au niveau génétique
b) au niveau cellulaire



II. La formation des organes
a) au niveau génétique
b) au niveau cellulaire



III. Le positionnement des organes

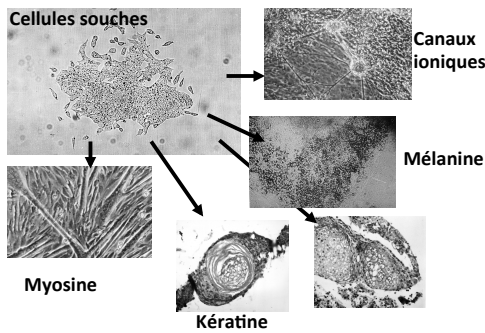


Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 8 : Nous suivons donc l'ordre que l'évolution nous indique. Nous discuterons de comment se fait la différenciation des types cellulaires qui apparaissent en premier dans l'évolution (- 600 millions d'années environ), puis de la formation des organes, qui apparaissent en second (- 550 millions d'années environ) et enfin du positionnement des organes dans l'organisme, car nous verrons que la formation et le positionnement des organes sont indépendants.

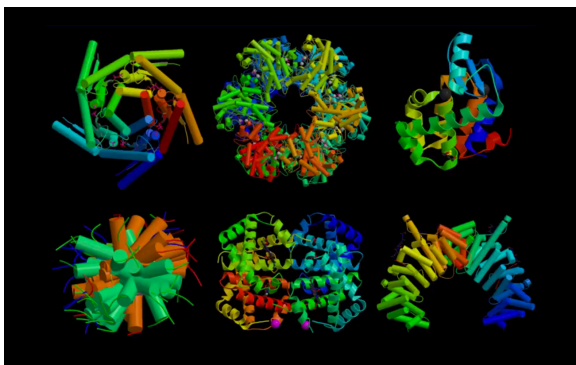
Très curieusement cet ordre est inverse de celui du développement. Dans le développement, le positionnement des organes est en premier puis vient leur formation et en dernier les types cellulaires. Nous verrons comment le paradoxe de cette inversion se résout.

I. La différenciation cellulaire



J.F.Nicolas, H.Jakob, F.Jacob, 1973

Diapositive 9 : Qu'est-ce qui fait qu'une cellule est musculaire et une autre nerveuse ? La cellule musculaire se caractérise par des protéines en particulier la myosine qui la rend contractile. De même les cellules nerveuses se caractérisent par d'autres protéines comme les canaux ioniques dépendant du voltage, mais elles n'ont pas de myosine. Les cellules pigmentées rétinienne se caractérisent par de la mélanine mais elles n'ont ni myosine ni canaux ioniques (référence du système de différenciation in vitro³).

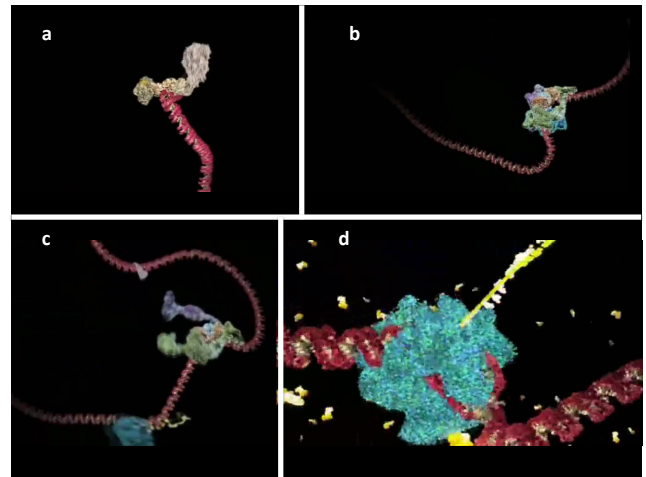


Protéine	Acides aminés	Gène	ADN	ATGC
Gène (ADN)	ARN			Protéine

Diapositive 10 : Les protéines sont des macromolécules qui diffèrent les unes des autres par leur forme. C'est cette forme qui leur confère leurs propriétés. Cependant elles sont composées de mêmes éléments, les 20-22 acides aminés mis à la queue leu leu, dans des combinaisons différentes de quelques centaines d'éléments.

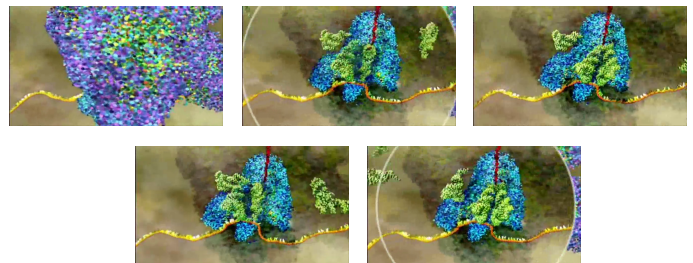
A une protéine correspond un gène (les gènes codent les protéines) et les gènes sont des séquences d'ADN. L'ADN est une macromolécule composée de 4 éléments, les bases puriques et pyrimidiques aussi mises à la queue leu leu, répétées quelques milliers de fois.

Les biologistes moléculaires ont élucidé comment les gènes donnent les protéines. Ceci se fait en deux étapes. Une copie ARN du gène ADN est produite qui sert ensuite à synthétiser la protéine. Voyons cela sur une animation.



Diapositive 11 : Une protéine est fixée sur le début du gène (la boîte tata du promoteur, a). Cette protéine recrute quelques 85 autres protéines, qui associées forment une machine moléculaire (b) qui va synthétiser l'ARN à partir des bases U, T, G, C du milieu (c) en copiant l'un des deux brins de l'ADN (d).

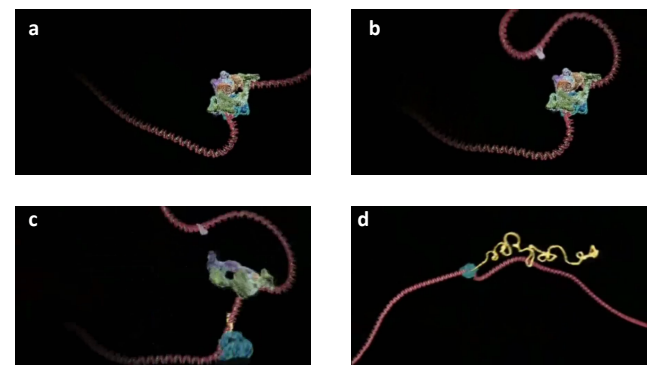
aa2, aa3, aa4, aa5, aa6, aa7, aa8, aa9, aa10, aa11, aa12, aa13, aa14, aa15



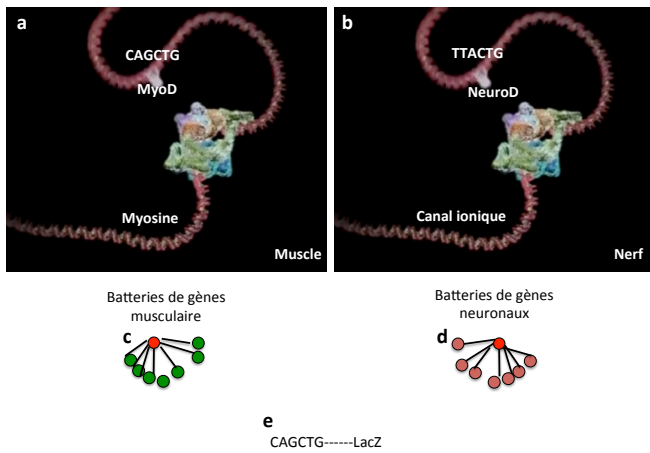
GGCAGCAGUCAGUCAAGCCUAGCCGUUCAGGAAUGCCUUUACGAGCCGUC
 PBS program "DNA The Secret of Life »

Diapositive 12 : Après la transcription, la traduction de l'ARN en protéine se fait avec une autre énorme machine moléculaire. Des molécules, les tARN, se fixent sur 3 bases de l'ARN auxquelles correspond l'acide aminé particulier qu'ils portent. Ces acides aminés sont assemblés selon la suite des triplets de bases de l'ARN (les codons). Les tARN assurent la correspondance entre le gène TGGCAACGGTACG... (suite de codons) et la protéine aa1, aa2, aa3,.... (suite d'aa). Un gène, une séquence ARN particulière et une protéine particulière.

L'activation transcriptionnelle



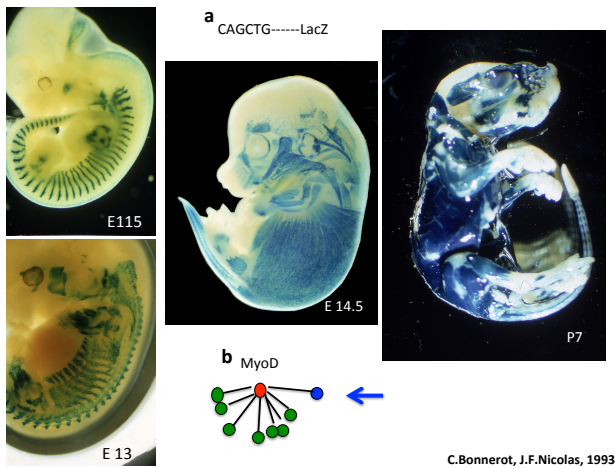
Diapositive 13 : Si j'ai pris ce temps pour rappeler ce qu'on appelle le dogme fondamental de la biologie moléculaire, c'est que s'y glisse l'un des secrets de l'évolution, l'activation transcriptionnelle. Pour que la transcription débute (a), il faut qu'un facteur modifie la machine moléculaire (b-d), ce facteur c'est un facteur transcriptionnel. Il reconnaît sur l'ADN une séquence spécifique de 5 à 10 bases sur laquelle il se fixe.



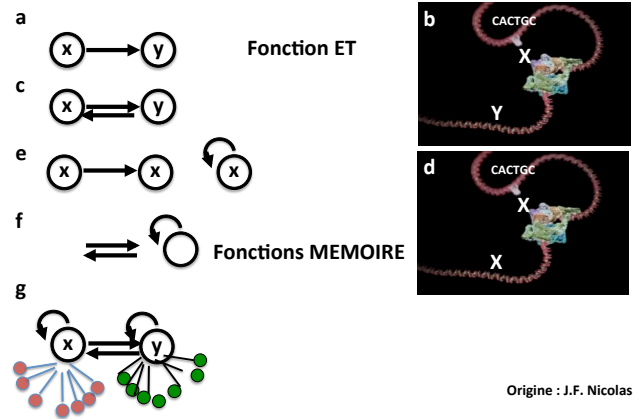
Diapositive 14 : Et voici pourquoi ceci est si important : dans les cellules musculaires un facteur transcriptionnel appelé MyoD reconnaît une séquence CAGCTG qui active la transcription du gène de la myosine (a) ⁴. Dans les neurones on trouve un autre facteur transcriptionnel appelé NeuroD qui reconnaît une autre séquence et active les gènes neuraux (b). MyoD n'est pas présent dans les neurones ; NeuroD n'est pas présent dans les cellules musculaires. Ce sont les facteurs transcriptionnels qui assurent la spécificité de l'expression des gènes.

MyoD active aussi d'autres gènes que la myosine, ceux dont le promoteur est flanqué de la séquence qu'il reconnaît. On parle de la batterie de gène activée par MyoD. Un seul facteur de transcription est capable d'activer des dizaines voire des centaines de gènes. On note cela comme cela : les nœuds sont des gènes, MyoD le facteur de transcription est en rouge, les liens indiquent une interaction, ici l'activation, avec des gènes, en vert, comme la myosine (c). Ceci est arrangement particulier entre ces gènes (un motif de réseau nommé SIM, single input module en anglais). Idem pour NeuroD (d).

La flexibilité de ce système vient de ce que la séquence sur l'ADN peut être presque n'importe où autour du gène. Et cela va loin, si l'on ajoute cette séquence à un gène quelconque, même un gène d'une bactérie (e) alors le gène va tomber sous le contrôle de MyoD.



Diapositive 15 : Voici un exemple : un gène, LacZ ⁵ qui rend les cellules bleues flanqué de la séquence que reconnaît MyoD, (a) a été introduit dans le génome de la souris. Il est alors exprimé dans les muscles de la souris ⁶. Il fait partie de la batterie de gènes MyoD (b, la flèche bleue). Il a été adopté, annexé (on dit coopté). Cela se produit encore et encore au cours de l'évolution modifiant les batteries de gènes.

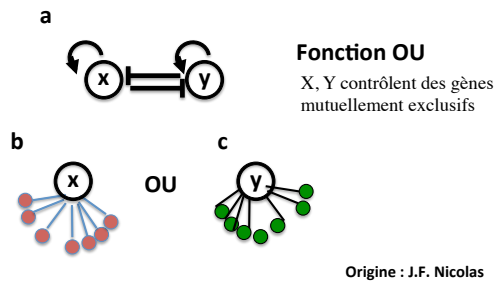


Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 16: Jusqu'où vont ces annexions, ces cooptions qui font qu'un facteur de transcription régule l'expression d'un autre gène ? On observe cette situation : Soit Y un facteur de transcription. Y est, tout comme la myosine, une protéine codée par un gène. X, facteur de transcription, peut donc être régulé par un autre facteur de transcription, tel X (a), si au gène Y se trouve associée la séquence ADN sur laquelle X se fixe (b). Les facteurs de transcription peuvent se réguler les uns les autres. Et cela change tout ⁷⁻⁹. Ainsi on observe aussi cette situation : X active Y et Y active X (c). La conséquence : comme Y entretient l'expression de X qui entretient l'expression de Y, l'expression de X et de Y deviennent permanentes. Sans cet arrangement X et Y et les batteries de gènes associés ne seraient exprimées que transitoirement. En effet X et Y sont des protéines qui donc se dégradent assez rapidement.

On trouve aussi cela : la séquence de reconnaissance de X flanque le gène X (d), alors celui-ci s'active lui-même (e). Et son expression devient permanente. L'activation réciproque (double boucle de rétroaction) et l'autorégulation positive sont des arrangements des facteurs de transcription entre eux (f). La propriété mémoire émerge de ces arrangements. Les propriétés émergentes sont capitales en biologie, présentes à tous les niveaux d'interactions.

L'activation réciproque est un arrangement avec une propriété « et ». La batterie de gènes qu'il contrôle va aussi être activée. Dans une cellule différenciée plusieurs batteries de gènes sont activées par des facteurs de transcription différents (g).

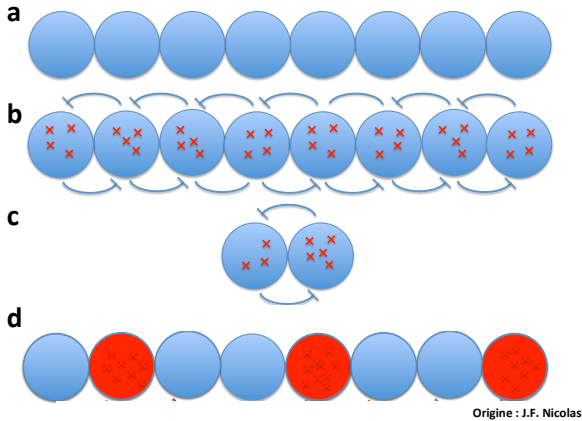


Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 17 : Tout cela vaut pour la situation inverse, la répression de l'activité des gènes qui se fait de la même manière avec des facteurs de transcription et c'est noté avec un signe de ce type (b). Dans le cas d'une double boucle de rétroaction négative si X est exprimé Y ne l'est pas (car il est réprimé par X) et réciproquement. A ce nouvel arrangement correspond la fonction « ou ». Ou bien la batterie de gènes contrôlée par X est exprimée et pas celle de Y, ou l'inverse.

Nous savons un peu pourquoi au niveau des gènes une cellule musculaire et une cellule nerveuse sont différentes et le restent.

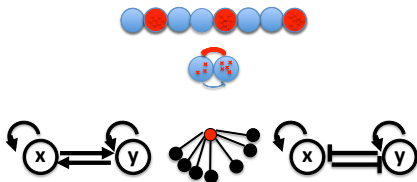
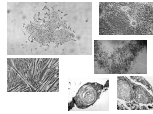
Qu'en est-il au niveau des cellules ?



Diapositive 18 : Voici l'exemple d'un tel processus utilisé par les organismes actuels. Envisageons que les cellules de la colonie produisent une substance X qui inhibe la production de X dans les cellules voisines (b). Ces cellules sont identiques mais il est inéluctable qu'à un moment une fluctuation de la quantité de X dans certaines des cellules se présente. Certaines cellules vont avoir plus de X que les autres (c). Alors X va continuer à augmenter dans ces cellules car les cellules voisines vont moins l'inhiber ; et X va diminuer dans les cellules voisines. Le processus va s'emballer et les cellules concernées vont devenir différentes (d). Si X était MyoD alors les cellules l'exprimant deviendraient musculaires ! Ce processus, l'inhibition latérale (Notch/Delta), est un type d'interaction entre cellules basé sur un événement aléatoire (la fluctuation de X) bien simple mais capable de générer des types différents dans un groupe homogène.

I. La différenciation cellulaire

- a) au niveau génétique
- b) au niveau cellulaire



Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 19 : En résumé la différenciation cellulaire implique deux niveaux d'interaction qui devaient déjà exister il y a 600 million d'années chez des organismes comme Trichoplax : le niveau des cellules avec des processus créant des hétérogénéités entre elles qui nécessitent une communication entre elles ; le niveau des gènes avec les facteurs de transcription qui activent ou répriment spécifiquement des batteries de gènes et même qui s'activent ou se répriment entre eux.

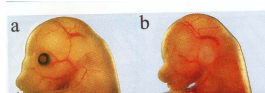
Les gènes ne sont pas des éléments isolés autosuffisants, ils interagissent. De ces interactions émergent des propriétés (mémoire, opérations logiques « et », « ou », et bien d'autres).

Avec ces deux ingrédients nous avons des organismes comme Trichoplax mais pas d'organes.

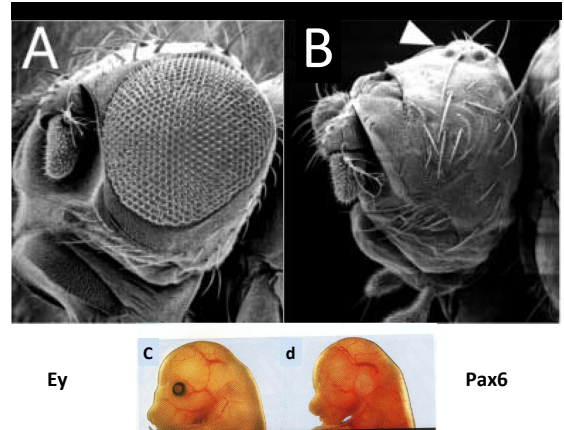
Les trois problèmes du développement

II. La formation des organes

- a) au niveau génétique
- b) au niveau cellulaire

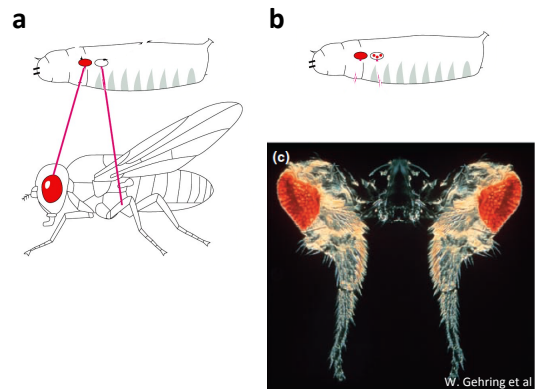


Diapositive résumée : Nous prendrons l'œil, un exemple type d'organe. Cette partie de ma présentation est dédiée à un grand ami du laboratoire Arago, et très grand biologiste du développement, Walter Gehring (1939-2014)¹⁰.



Diapositive 20 : L'histoire commence en 1915, quand une drosophile sans yeux fut décrite (A, B), due à la mutation d'un seul gène. Par la suite des mutations semblables furent décrites chez l'homme et chez la souris (c, d) et de nouveau un seul gène est impliqué. Dans les 3 cas il s'agit d'une délétion quasi parfaite des yeux. Cependant curieusement ni les généticiens et ni les embryologistes n'ont vraiment élaboré là-dessus. Il a fallu attendre le temps du clonage des gènes pour que cette histoire se poursuive. Cloner un gène, c'est isoler et multiplier le fragment d'ADN qui lui correspond. En 1991 le gène de la souris fut isolé, séquencé et identifié comme étant un facteur de transcription. Mais de nouveau ce fut sans grande portée. L'importance de ces observations n'est apparue que quand Walter Gehring clona le gène de la drosophile et annonça qu'il ressemblait comme deux gouttes d'eau à celui de la souris.

Des mutations de gènes homologues, des facteurs de transcription, qui font disparaître tout un organe, quelle histoire fantastique ! Le gène de la souris est dénommé Pax6 et celui de la drosophile Ey.



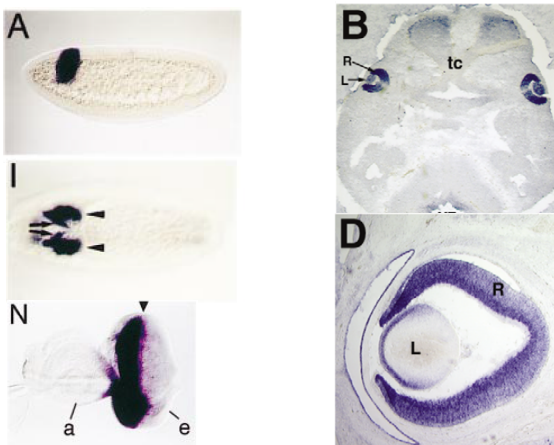
Diapositive 21 : Mais Walter Gehring a été plus loin. Il a introduit ce gène dans les cellules du primordia des pattes de la larve de la drosophile (a). Ce primordia qui n'exprime pas normalement le gène va l'exprimer. Et voici le résultat : des yeux sur les pattes (b).



Diapositive 22 : Et il a été encore plus loin, il a introduit le gène de la souris dans le primordia des antennes. Et voici le résultat : des antennes avec des yeux.

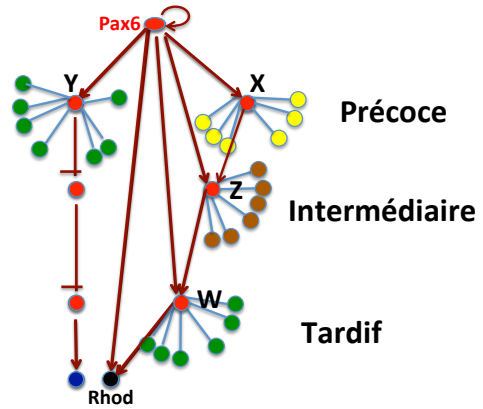
Ces expériences sont remarquables. L'on peut en tirer plusieurs conclusions : Clairement le gène Pax6 ne contient pas l'information de l'œil, il ne code pas l'œil proprement dit, puisque les yeux sur les antennes ne sont pas de souris mais de drosophile. Pax6 ne contient l'information que pour un facteur de transcription. C'est une conclusion que l'on peut généraliser : il n'y a pas un gène de l'œil pas plus qu'il n'y a un gène de l'intelligence ou de l'habileté. Ce sont des absurdités. Par contre ce facteur de transcription est capable de déclencher à lui seul le développement d'un organe complexe. Il est nécessaire (les mutants sont sans yeux) et suffisant (expression ectopique) et ce même dans des cellules destinées à toute autre chose.

Comment cela se peut-il ?



Diapositive 23 : Le patron d'expression de Pax6, c'est à dire quand et dans quelles cellules dans l'embryon ce gène est exprimé, nous renseigne.

Ey est exprimé très tôt, bien avant tout signe de développement de l'œil, dans le blastoderme de la drosophile (A). L'expression est maintenue (I, N) jusqu'à ce que les structures de l'œil soient formées. Chez la souris l'expression est aussi très précoce et implique plusieurs tissus, l'ectoderme neural (la future rétine) et l'ectoderme de surface (le futur cristallin)(B, D). Elle perdure jusqu'à la différenciation des cellules photoréceptrices (D). Cette expression permanente suggère que Pax6 fait plus que d'enclencher le processus. Il y participe.



Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 24 : Et de fait la génétique dévoile comment Pax6 intervient. Il active d'autres facteurs de transcription, X et Y. Puis ensemble Pax6 et X active Z qui active W. Enfin Pax6 et W activent les rhodopsines. Ces nouveaux motifs de réseau à trois noeuds s'appellent feedforward loop.

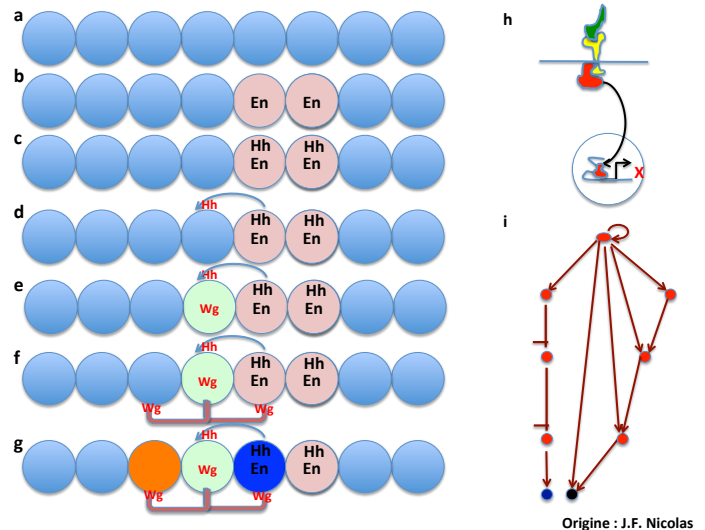
L'ensemble forme une cascade non linéaire d'activation de facteur de transcriptions. Comme chaque étape d'activation prend du temps, de l'ordre d'une génération cellulaire, de cet arrangement émergent deux nouvelles propriétés : un timing (une échelle de temps) et une séquentialité. Il y a des gènes d'expression précoce, intermédiaire et tardive.

Et bien sûr ces facteurs de transcription activent leurs batteries de gènes qui exécutent des opérations cellulaires.

On commence vraiment à comprendre que les facteurs de transcription sont des éléments d'un grand réseau de régulation et que cela est essentiel¹¹. Un facteur de transcription ou un gène isolé, ça n'a pas de sens. Il faut les interpréter dans le réseau dans lequel ils se trouvent.

Ainsi Pax6 joue un rôle particulier par ce qu'il intervient à plusieurs niveaux et contrôle beaucoup des facteurs de transcriptions (3000 gènes du génome) du réseau de régulation. On peut comparer ce gène à un chef d'orchestre qui appelle successivement tel ou tel groupe d'instruments ou soliste à jouer ou à se taire. C'est aussi ce qu'on appelle un maître gène. Mais attention Pax6 est un facteur transcriptionnel comme les autres. Sa particularité vient de sa position dans ce que nous appellerons le réseau de régulation des gènes du génome.

Voilà ce qu'il en est pour le réseau génétique.



Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 25 : Mais un œil se construit à partir de plusieurs types cellulaires contrôlés par Pax6. De plus durant le processus apparaissent de nouveaux territoires. Ils vont devoir venir d'hétérogénéités entre cellules. Nous sommes devant le même problème qu'avec la différenciation cellulaire. Les interactions cellulaires, comme l'inhibition latérale, vont de nouveau intervenir.

Je mentionne ici l'interaction inductive qui utilise la diffusion de molécules, les morphogènes. On démarre avec deux territoires (b). En (engrailed) dans ces cellules active une protéine, Hh (hedgehog) (c), qui diffuse hors de ces cellules et se fixe sur un récepteur membranaire d'autres cellules (d) qui alors activent un facteur transcriptionnel qui active de nouveaux gènes dont Wg (wingless) (e). Se crée ainsi un nouveau territoire, vert, dans le bleu. Mais Wg est aussi un morphogène, une protéine (de 350aa) qui diffuse et se fixe sur un autre récepteur (f) qui active de nouveaux gènes et crée de nouveaux territoires dans les territoires préexistants (g). Ces nouveaux territoires sont nécessaires à la diversification des états d'activité des cellules. Pax6 y contrôle des cascades (i) différentes d'activation de gènes dans les 5 territoires. Hh et Wg sont des éléments de ce qu'on appelle des voies de signalisation ici présentées d'une manière très simplifiée (h, un morphogène, vert ; un récepteur membranaire, jaune ; un facteur de transcription, rouge, modifié par le récepteur activé).

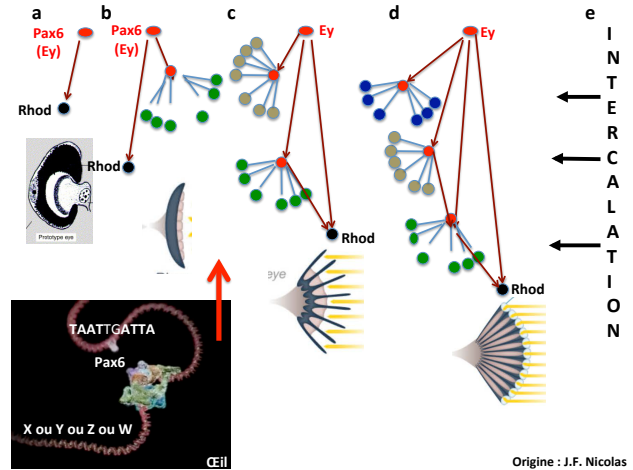
Voilà ce qu'il en est quant à la formation des organes. Nous savons un peu comment le processus fonctionne.

Il reste à expliquer que le même gène serve chez la souris et la mouche et soit resté interchangeable après tout ce temps. Tout d'abord, non seulement l'association Pax6 - œil concerne la souris et la drosophile mais en fait tous les vertébrés et tous les invertébrés bilatériens et même avant, y compris chez les coelenteres (cnidaires, jellyfish).

Alors pourquoi l'association Pax6 yeux est-elle universelle ? Pourquoi d'autres facteurs de transcription ne sont-ils pas utilisés ?

Cette notion de blocage est plus générale : le système (le développement) n'a pas, beaucoup s'en faut, tous les degrés de liberté possibles.

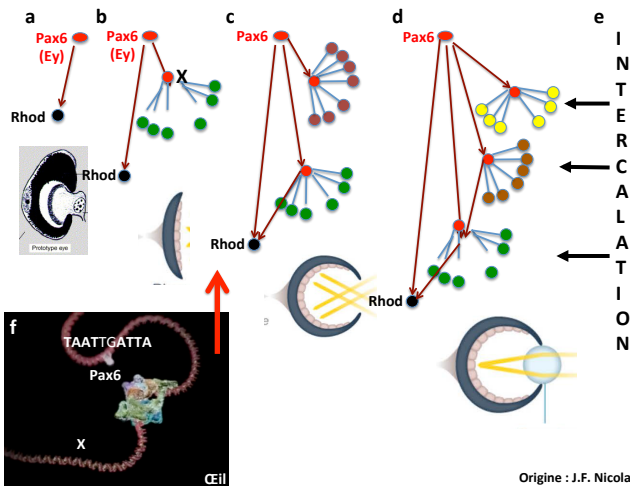
L'intercalation simplifie considérablement l'évolution. Dans sa forme la plus simple, elle n'est basée que sur des batteries de gènes qui existent déjà pour la différenciation cellulaire et sur l'annexion de gènes qui est assez simple, rappelez vous les cellules bleues dans le muscle.



Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 27 : Et bien sûr les batteries de gènes qui ont été intercalées sont différentes chez la souris et la drosophile. Les yeux sont donc différents mais Pax6/Ey reste associé aux yeux dans toutes les espèces simplement et uniquement par ce qu'il était le premier de cette chaîne chez l'ancêtre commun.

On passe insensiblement de la différenciation cellulaire à la formation des organes. Sans invention particulière. Et de plus sans création de nouveaux gènes. Pax6 était un gène de différenciation avant d'être un gène de formation d'organe.



Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 26 : L'idée est la suivante ¹²:

Avant les coelenteres (cnidaires), donc chez un animal comme Trichoplax, un œil très simple s'est, par pure chance, formé. Il était composé d'une cellule photoreceptrice et d'une cellule pigmentée (a), cela correspondant à une simple différenciation cellulaire, comme celles que nous avons déjà vu, Pax6 activant le gène de la rhodopsine.

Par la suite la complexification de cet œil très simple passe par des modifications par des batteries de gènes. Il faut que ces batteries de gènes soient activées dans les bonnes cellules et au bon moment, c'est à dire dans les territoires où Pax6 s'exprime déjà. Le plus simple, de loin, est que ces batteries de gènes tombent sous le contrôle de Pax6 (b). Pour cela il suffit qu'aux alentours du gène X qui les contrôlent, la séquence que reconnaît Pax6 (5-TAATTGATTA-3 entre autres) apparaisse (f). Plus Pax6 annexe ainsi de nouvelles batteries de gènes (c, d), plus il devient impossible que l'œil change son contrôle pour un autre facteur de transcription. On parle d'intercalation de nouveaux gènes et de nouvelles batteries de gènes entre Pax6 et son contrôle initial de la rhodopsine (e). Dès les coelenteres (la flèche rouge à gauche) le système comporte déjà trop d'éléments et est bloqué.

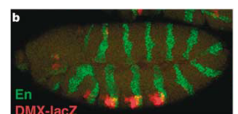


W. Gehring et al

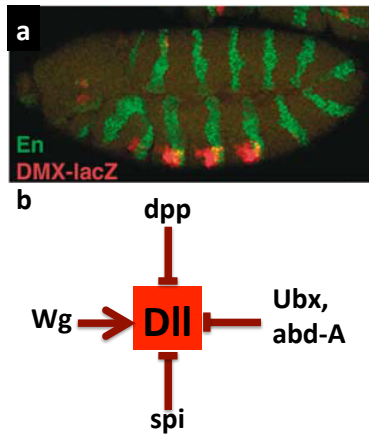
Diapositive 28 : Donc les yeux peuvent se former un peu partout (antennes, pattes, ailes etc.) pour peu que le gène Ey/Pax6 s'y exprime. Il y a donc un vrai problème de positionnement des organes. Peut-il être résolu avec les facteurs transcriptionnels que la différenciation cellulaire et la formation des organes utilisent ? Correspond-t-il à l'activation du maître gène Ey/Pax6 dans seulement une petite région de l'embryon et nulle part ailleurs ? Et bien de fait, c'est ce qui est observé.

Les trois problèmes du développement

III. Le positionnement des organes

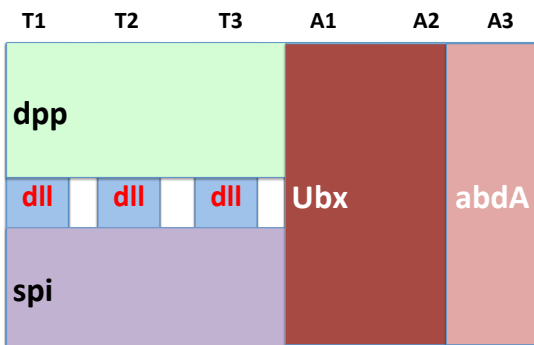


Diapositive 29 : Je l'illustre avec un autre maître gène, celui des pattes de la drosophile, Dll (Distal-less) et aussi de beaucoup d'appendices chez les animaux, ¹¹ exprimé dans trois secteurs dans les trois segments thoraciques T1, T2 et T3 de la larve.



Diapositive 30 : Les généticiens ont montré que Dll est activé dans ces segments par un morphogène, Wingless. Mais Wingless, en vert, est exprimé dans tous les segments en bandes transverses. En conséquence Dll devrait être activé en bandes transverses dans tous les segments. Il ne l'est pas car un autre, un morphogène Dpp (Decapentaplegic, homologue vertébré BMP, famille TGF-beta) qui s'exprime dans un large secteur horizontal dorsalement inhibe Dll dans tous les segments. Ventralement spi le récepteur de l'EGF qui s'exprime dans un large secteur horizontal ventral inhibe aussi Dll dans tous les segments.

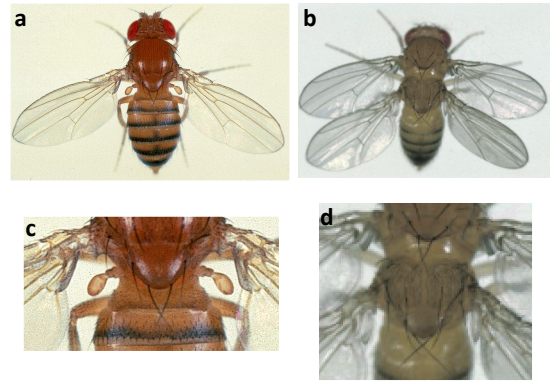
Enfin 2 facteurs de transcription, Ubx et AbdA, qui s'expriment dans les segments abdominaux mais pas thoraciques répriment directement Dll (b). Ne restent donc que les trois petits secteurs des segments thoraciques (a, les spots rouges).



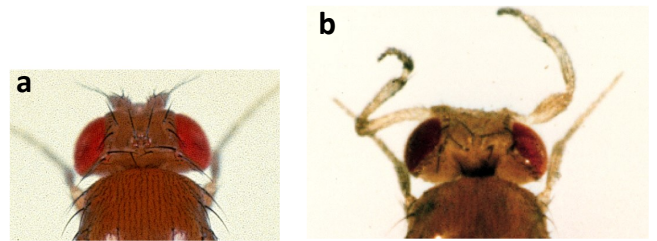
Diapositive 31 : Reprenons : activation de Dll (par Wingless), inhibition dorsale (par Dpp), inhibition ventrale (par spi), inhibition dans les segments abdominaux (par Ubx et AbdA).

Voici la logique du positionnement des organes : le control du maître gène dans les territoires de l'embryon (morphogènes et Hox).

Que sont tous ces gènes ? A quoi servent-ils ?



Diapositive 32 : Tout d'abord Ubx et AbdA. Ces gènes là sont connus depuis longtemps¹³. Le mutant appelé ultrathorax (Ubx), isolé en 1915, présente quatre ailes. Le segment qui, normalement, porte les balanciers (T3), des organes qui servent à la drosophile à équilibrer son vol, est chez le mutant transformé en un segment qui porte des ailes (T2).

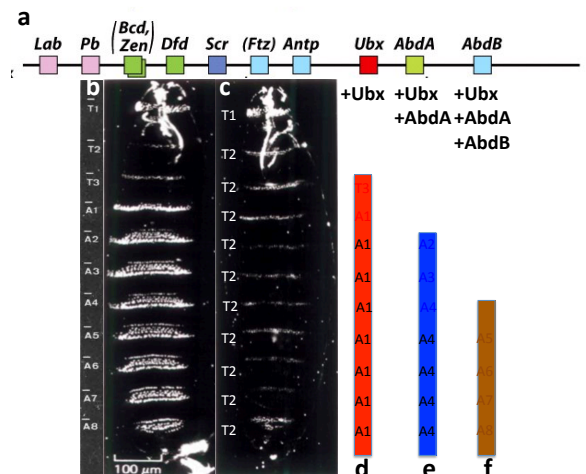


Antennapedia. W. Gehring et al.

Diapositive 33 : D'autres mutants qui transforment un territoire de la mouche en un autre ont été décrits. Le mutant appelé antennapedia porte des pattes à la place des antennes.

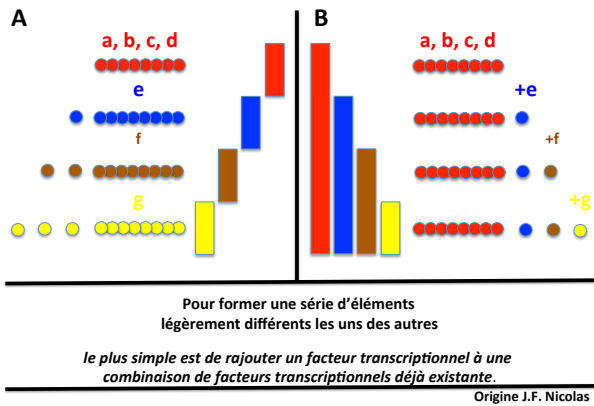
Les généticiens parlent d'un changement de l'identité d'une région du corps. C'est à première vue différent des maîtres gènes, Pax6 ou Dll, mutés donne un organisme ou l'organe n'est pas fait (absence d'œil, de patte), n'est remplacé par rien.

Ces mutants ont fait couler beaucoup d'encre. Peut-être en avez vous entendu parlé : ce sont les gènes Hox¹⁰⁻¹⁴. Mais première bonne nouvelle on sait depuis 1983 (W. Gehring, D. Hogness) que ce sont des facteurs transcriptionnels, nous restons en terrain connu.



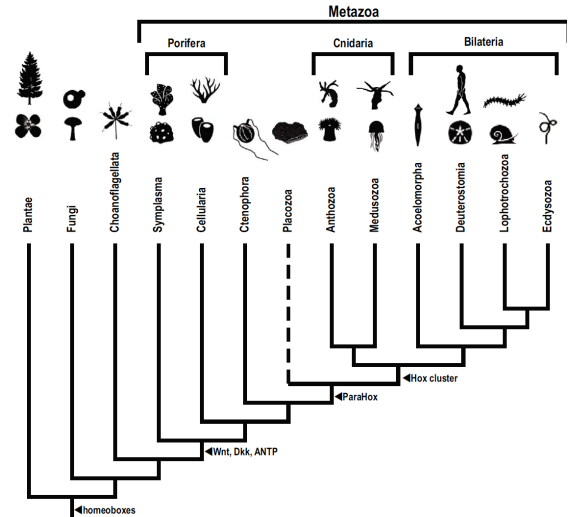
Diapositive 34 : Chez la drosophile ils sont au nombre de dix (a). Si on mute ceux qui nous intéressent, Ubx et AbdA et B tous les segments abdominaux de la larve (b) sont changés en segments thoraciques (c). Et donc effectivement, la mouche devrait avoir des pattes tout le long du corps.

Si on rajoute à ce mutant le gène Ubx alors les segments T3 et A1 réapparaissent mais les autres subissent encore une transformation homéotique, en type A1(d). La mouche ne devrait plus avoir de pattes que dans les segments thoraciques. Si l'on rajoute de plus AbdA les segments 5 à 7, (A2, A3 et A4) réapparaissent mais les autres subissent encore une transformation homéotique en type A4 (e) et enfin si on rajoute AbdB les segments A5 à A8 réapparaissent (f). Cela semble magique ! Qu'en est-il ? Voyons les profils d'expression. Ubx s'exprime dans tous les segments postérieurs à partir de T3 (d) ; AbdA s'exprime dans tous les segments postérieurs à partir du A2 (e); et enfin AbdB s'exprime dans tous les segments postérieurs à partir du 8ème (f). La clé de cette magie devient apparente : les activités de ces gènes s'additionnent dans les territoires où ils se recouvrent ; ils agissent en combinaison.

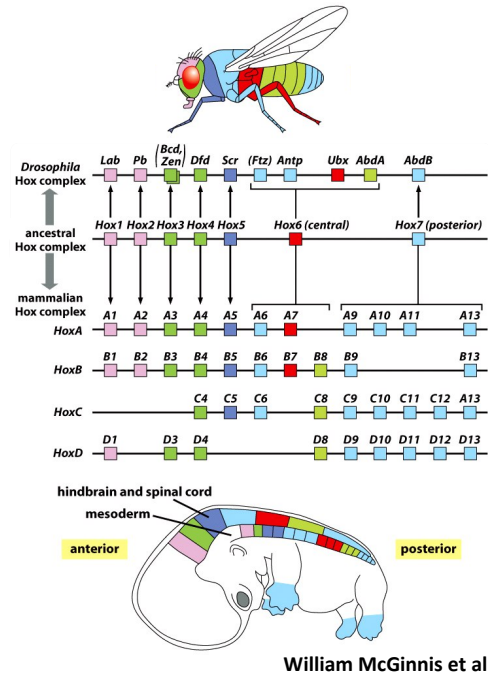


Diapositive 35 : En l'absence des gènes Ubx et AbdA et B les segments présentent tous une même structure (T2) contrôlée par les facteurs de transcription a-d qui s'expriment dans tous les segments (B, à droite, les éléments rouges). Ubx rajoute des caractères (le nœud bleu), contrôlés par e, dans tous les segments postérieurs où il s'exprime qui les transforment en segments bleus (a-d + e). AbdA rajoute plus postérieurement d'autres caractères (le nœud marron), contrôlés par f, qui les transforment en segments marrons (a-e + f). Et AbdB en segments abdominaux jaunes (a- f + g, le nœud jaune). Si l'on retire AbdB tous ces segments caudaux sont marrons (a-e + f), si l'on retire AbdA, tous ces segments caudaux sont bleus (a-d + e) et si l'on retire Ubx tous ces segments sont rouges (a-d). Exactement comme ce qui est observé (à la subdivision des segments en compartiments et à l'effet dose près, que nous avons ignoré). Ces gènes sont donc les maîtres gènes des caractères e, f, et g. Simple, leur action s'inscrit dans une combinatoire : il y a plusieurs maîtres gènes pour un segment donné.

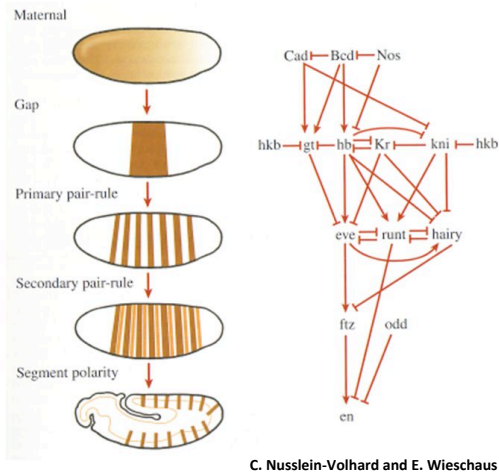
Apparemment, tout cela semble tarabiscoté. Pourquoi pas un maître gène par segment ? Dans ce système des éléments semblables répétés, les segments, sont rendus différents par cette série de gènes a-g. Avec un maître gène par segment la situation serait la suivante (A, à gauche) : pour le premier segment, a-d contrôlent ces huit autres facteurs de transcriptions, comme dans la situation combinatoire. Mais pour le segment bleu, e devra contrôler, outre le facteur de transcription de gauche, les huit facteurs de transcriptions de base ; donc il faut raccorder e aux 8 facteurs de transcriptions rouges, 9 événements indépendants contre un seul pour la situation combinatoire. Même chose pour le segment marron, 10 événements indépendants contre un pour la situation combinatoire et ainsi de suite. Clairement le système de type combinatoire est beaucoup plus simple à mettre en place ! Pour former une série d'éléments légèrement différents les uns des autres, le plus simple est de rajouter des facteurs de transcription à une combinaison de facteurs de transcription déjà existante. Et bien c'est le plus simple qui apparait le plus facilement dans l'évolution.



Diapositive 36 : Tout cela est bel et bien mais est-ce essentiel ? Et bien, de nouveau, c'est l'évolution qui nous donne la réponse. Ce système de spécification de territoires répétés, les segments chez la drosophile, est retrouvé chez tous les insectes, tous les arthropodes, chez l'amphioxus, les poissons, chez la souris et l'homme. En fait, il est déjà présent chez l'ancêtre commun aux bilatériens et aux cnidaires...



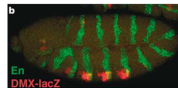
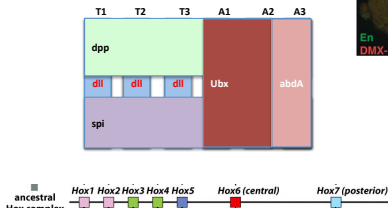
Diapositive 37 : ... et est conservé, mais bien sûr modifié, jusqu'aux drosophiles et à nous, qui avons utilisé ces gènes Hox pour spécifier les régions de notre corps depuis la nuque jusqu'à la partie la plus caudale de votre corps¹⁵. Chez les vertébrés le locus a été dupliqué deux fois. La grande diversité des formes passées et actuelles d'animaux, vers, mouches, vertébrés et autres est en partie due à ce système de spécification somme toute assez simple.



C. Nusslein-Volhard and E. Wieschaus

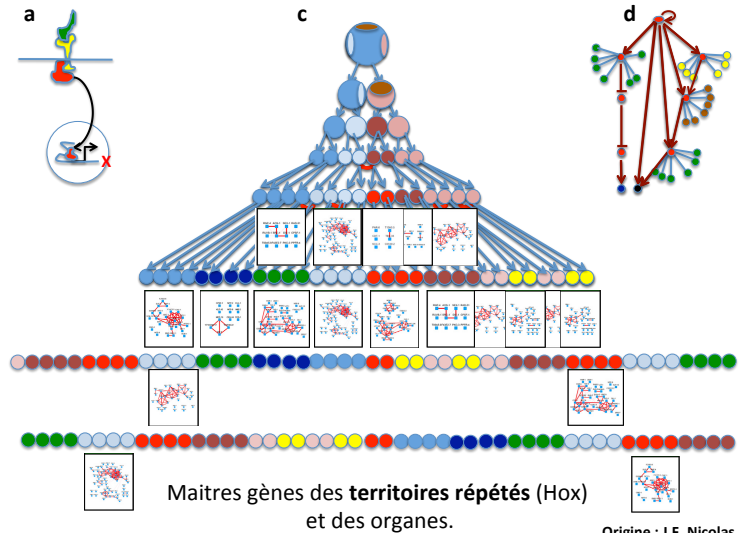
Diapositive 38 : Il resterait à discuter des gènes *Wingless* et *Dpp*. L'un est impliqué dans les opérations antéro-postérieures du développement de l'embryon de la drosophile, l'autre dans les opérations dorso-ventrales. Les cascades de facteurs de transcription qui contrôlent ces gènes sont connues. Celles pour *Wingless*, l'activateur de *Dll*, tirent leur origine des hétérogénéités moléculaires de l'œuf de la drosophile et aboutissent à l'expression d'*engrailed*, l'activateur de *wingless*, dans les 14 segments¹⁶. Nous sommes remontés à l'origine du développement, la cellule unique. Nous en avons terminé.

III. Le positionnement des organes



Des cascades qui démarrent dans la cellule unique

Diapositive 39 : En résumé, le positionnement des pattes se fait par cette activation et ces inhibitions dans les territoires voisins. Mais, cette partie du réseau de régulation de gènes n'a pas été faite pour positionner les organes. Chacun de ces facteurs de transcription a eu et a encore sa propre justification et contrôle ses propres opérations du développement. Toutes ne sont pas encore connues. Pour les identifier il faut plonger très profondément dans la phylogenèse. Et, *Pax6* et *Dll* se sont positionnés par rapport à ces gènes par opportunité, par pure chance.



Origine : J.F. Nicolas

Diapositive 40 : Conclusion

Déroulons maintenant le film dans l'ordre du développement. L'œuf se divise selon le schéma indiqué (b). Les divisions entraînent la ségrégation d'hétérogénéités moléculaires de l'œuf (les couleurs bleu pâle, marron foncé et marron clair) qui créent les premiers territoires de l'embryon où sont activées des combinaisons particulières de facteurs de transcription (les boîtes blanches). Les interactions entre cellules subdivisent ensuite ces territoires (les autres couleurs, rouge, jaune vert, etc.). Ces combinaisons de facteurs de transcription déterminent les comportements cellulaires des territoires qui, ensemble, effectuent les opérations du développement. Cela débouche sur de nouvelles interactions entre cellules qui créent de nouveaux territoires où sont activées d'autres combinaisons de facteurs de transcription dont les maîtres gènes qui contrôlent la diversification des territoires répétés (segments chez la drosophile) par les combinatoires des gènes *Hox* et la formation des organes.

Les opérations du développement semblent deviner le futur, placent les organes aux bons endroits, le paradoxe levé au début de cet exposé. On comprend maintenant qu'elles sont le résultat de l'évolution par, entre autres des coptions, comme avec l'intercalation, qui organise les gènes en un réseau de régulation, repoussant la différenciation cellulaire à la fin du processus et semblant donner une direction au développement.

Les successions de combinaisons de facteurs de transcription dans les territoires qui se forment (les successions verticales de boîtes) correspondent à autant d'états du réseau de régulation génétique. Elles tirent leur dynamique des interactions entre cellules et de la structure du réseau génétique. la véritable nouveauté des développements ce furent les interactions entre cellules qui par les voies de signalisation relaient les signaux entre cellules au réseau génétique.

Les voies de signalisation (a) sont à l'origine de nouveaux territoires cellulaires dans lesquels se déploient de nouveaux arrangements du réseau de régulation des gènes (c). Elles permettent donc la complexification et de l'embryon et du réseau génétique.

Avec les développements le niveau sur lequel l'évolution joue a changé. Avec les nouveaux territoires et la différenciation cellulaire on est passé du niveau des cellules individuelles au niveau des groupes de cellules hétérogènes ; puis avec la formation des organes, basée sur des opérations du développement et la différenciation cellulaire, au niveau des organismes.

Au réseau des 1000 à 2000 gènes de régulation chez les animaux correspond un nombre d'états potentiels infinis ($2^{2000} = 10^{600}$; rappel : nombre de galaxies dans l'univers, 10^{11} , nombre de particules dans l'univers, 10^{80} , nombres d'espaces de Calabi-Yau, 10^{300} , théorie des cordes¹⁷) du réseau génétique.

Et bien vous, moi, sommes une de ces réalisations parmi cette infinité des possibles.



Diapositive 41 : Le groupe de JFN à l'Institut Pasteur en 2000. Premier rang : Christine Chevallier, Morgane Dolez, Anne-Cécile Petit, Amélie Wegener, Suzanne Capgras. Second rang: Inès Sequiera, Elena Tzouanacou, Pascal Dardenne, Isabelle Rosko, Emilie Legué, Françoise Kamel, Estelle Hirsinger, Claude Legrand. **Mille mercis aussi** à Claire Bonnerot, John Rubenstein, Josh Sanes, Sophie Eloy-Trinquet, Luc Mathis, Lucile Montfort, Muriel Vernet, Didier Rocancourt, André Choulika, Stephan Gasca, Sylvie Forlani, John Muschler, Thierry Heidmann, Valérie Wilson, Jacqueline Deschamps, Edwig Jakob, Paul Berg, François Jacob et tous les autres.

References

- 1 Nicolas, J. F. Elongation in chordates: a view from clonal analysis. (2015).
- 2 Srivastava, M. *et al.* The Trichoplax genome and the nature of placozoans. *Nature* **454**, 955-960, doi:10.1038/nature07191 (2008).
- 3 Nicolas, J. F., Dubois, P., Jakob, H., Gaillard, J. & Jacob, F. Tératocarcinome de la souris : différenciation en culture d'une lignée de

cellules primitives à potentialités multiples. *Ann Microbiol* **126 A**, 3 - 22 (1975).

- 4 Davis, R. L., Weintraub, H. & Lassar, A. B. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* **51**, 987-1000 (1987).
- 5 Bonnerot, C. & Nicolas, J.-F. in *Methods in Enzymology : Guide to techniques in mouse development* Vol. 225 (ed Academic Press) 451-469 (Wassarman, P. M. and DePamphilis, M. L., 1993).
- 6 Nicolas, J. F., Bonnerot, C. & Gasca, S. Le développement embryonnaire de la souris : nouvelles approches génétiques. *Bull Inst Pasteur* **88**, 115-138 (1990).
- 7 Monod, J. & Jacob, F. Teleonomic mechanisms in cellular metabolism, growth, and differentiation. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* **26**, 389-401 (1961).
- 8 Jacob, F. & Monod, J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of molecular biology* **3**, 318-356 (1961).
- 9 Alon, U. *An introduction to systems biology : design principles of biological circuits*. (Chapman & Hall/CRC, 2006).
- 10 Gehring, W. J. The evolution of vision. *Wiley interdisciplinary reviews. Developmental biology* **3**, 1-40, doi:10.1002/wdev.96 (2014).
- 11 Zhou, J. X., Samal, A., d'Herouel, A. F., Price, N. D. & Huang, S. Relative stability of network states in Boolean network models of gene regulation in development. *Bio Systems* **142-143**, 15-24, doi:10.1016/j.biosystems.2016.03.002 (2016).
- 12 Gehring, W. J. & Ikeo, K. Pax 6: mastering eye morphogenesis and eye evolution. *Trends Genet* **15**, 371-377. (1999).
- 13 Lewis, E. B. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* **276**, 565-570 (1978).
- 14 Deschamps, J. & Duboule, D. Embryonic timing, axial stem cells, chromatin dynamics, and the Hox clock. *Genes & development* **31**, 1406-1416, doi:10.1101/gad.303123.117 (2017).
- 15 McGinnis, W. & Krumlauf, R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell* **68**, 283-302 (1992).
- 16 Carroll, S. B., Grenier, J. K. & Weatherbee, S. D. *From DNA to diversity*. (Blackwell Science, 2001).
- 17 Greene, B. *L'Univers élégant*. (Robert Laffont, 2000).

Remerciements J.F. Nicolas est chercheur invité à l'Institut Pasteur..