

## CHAPITRE 19

# Les mécanismes cellulaires du développement

### Aperçu du chapitre

- 19.1 Le mécanisme du développement
- 19.2 La division cellulaire
- 19.3 La différenciation cellulaire
- 19.4 La reprogrammation nucléaire
- 19.5 Formation du plan de l'organisme
- 19.6 La morphogenèse

## Introduction

Les travaux récents sur différents types de cellules souches, comme celles qui sont représentées ici, ont suscité des espoirs et l'imagination dans le public. Pendant des milliers d'années, les humains se sont demandé comment les organismes apparaissent, grandissent, se modifient et arrivent à maturité. Nous sommes aujourd'hui en mesure de répondre à ces questions anciennes et de nouvelles possibilités de médecine régénérative pointent à l'horizon.

Nous avons étudié l'expression génique dans le cadre des cellules individuelles, en examinant les divers mécanismes utilisés par les cellules pour contrôler la transcription de gènes particuliers. Nous élargissons maintenant notre perspective et nous examinons le défi posé par le développement d'une cellule unique, l'œuf fécondé, en un organisme pluricellulaire. Au cours de ce développement, une série de décisions sont prises concernant l'expression génique, entraînant le développement des souches de cellules dans des voies différentes, tissant un réseau incroyablement complexe de causes et d'effets. Mais, malgré toute cette complexité, ce programme de développement fonctionne avec une précision impressionnante. Dans ce chapitre, nous explorons le mécanisme du développement au niveau cellulaire et moléculaire.

### 19.1 Le mécanisme du développement

On peut définir le développement comme un programme de modifications systématiques, dirigé par les gènes, au cours duquel un organisme passe par les stades successifs de son cycle vital. Le développement est un continuum et l'exploration peut se focaliser sur tous les points de ce continuum. L'étude du développement joue un rôle central en faisant la synthèse aussi bien des similitudes connues que de la diversité de la vie sur la Terre.

On peut diviser l'ensemble du processus de développement en quatre parties :

- **La division cellulaire.** L'origine du développement d'une plante ou d'un animal est un œuf fécondé, un zygote, qui doit subir des divisions cellulaires pour donner le nouvel individu. Dans tous les cas, le développement initial implique des divisions cellulaires nombreuses, mais souvent sans croissance importante, parce que l'œuf lui-même est déjà très volumineux.
- **La différenciation.** Les cellules se divisant, des modifications orchestrées de l'expression des gènes entraînent des

différences entre elles et finalement, leur spécialisation. Dans les cellules différenciées, certains gènes s'expriment à des moments particuliers, mais d'autres peuvent ne pas s'exprimer du tout.

- **Formation d'un plan.** Dans l'embryon en développement, les cellules doivent s'orienter en fonction de l'organisme que l'embryon doit donner. La formation du plan implique que les cellules soient capables de détecter des informations sur leur position, qui orientent leur destinée finale.
- **La morphogenèse.** Au cours du développement, la forme de l'organisme – ses organes et ses caractéristiques anatomiques – se précise. La morphogenèse peut impliquer la mort des cellules aussi bien que leur division et leur différenciation.

## 19.2 La division cellulaire

### Objectifs

1. Caractériser le rôle de la division cellulaire au début du développement.
2. Décrire le sort des souches cellulaires chez *C. elegans*.
3. Montrer les différences entre les animaux et les plantes du point de vue des divisions cellulaires.

Quand un têtard sort de ses enveloppes protectrices, sa masse totale est à peu près la même que celle de l'œuf fécondé dont il provient. Le têtard n'est cependant pas formé d'une cellule, mais d'environ un million de cellules qui sont organisées en tissus et organes doués de fonctions différentes. La division cellulaire est donc le tout premier mécanisme intervenant au début de l'embryogenèse.

Immédiatement après la fécondation, le zygote diploïde passe par une période de divisions mitotiques rapides aboutissant finalement à un jeune embryon formé de dizaines ou de milliers de cellules diploïdes. Dans les embryons animaux, le timing et le nombre de ces divisions sont spécifiques et contrôlés par un lot de molécules décrites au chapitre 10 : les *cyclines* et les *kinases cycline dépendantes* (*Cdk*). Ces molécules exercent un contrôle sur les points de passage du cycle mitotique.

### Le développement débute par la division cellulaire

Dans les embryons animaux, la période de division cellulaire rapide suivant la fécondation est la segmentation. Pendant la segmentation, la masse énorme du zygote se divise en un nombre de plus en plus grand de cellules de plus en plus petites, les **blastomères** (figure 19.1). La segmentation ne s'accompagne donc pas d'une augmentation de la masse totale de l'embryon. Les stades  $G_1$  et  $G_2$  du cycle cellulaire, durant lesquels la masse et la taille de la cellule augmentent, sont extrêmement réduits ou absents pendant la segmentation (figure 19.2).

À cause de cette absence d'interruption, la rapidité des divisions mitotiques durant la segmentation n'est égalée à aucun autre moment de la vie des animaux. Par exemple, les blastomères du poisson-zèbre se divisent toutes les quelques minutes durant la segmentation pour donner un embryon d'un millier de cellules en moins de 3 heures ! En comparaison, les cellules de l'épithélium intestinal humain adulte ne se divisent en moyenne que toutes les 19 heures environ. On peut trouver une comparaison des différents modes de segmentation au chapitre 53.

Quand des sources externes de nutriments deviennent disponibles – par exemple quand les larves se nourrissent, ou après l'implantation des embryons de mammifères – la taille des cellules peut augmenter après la cytokinèse et l'ensemble de l'organisme peut grandir grâce à la production de nouvelles cellules.

### On connaît toutes les divisions cellulaires durant le développement de *C. elegans*

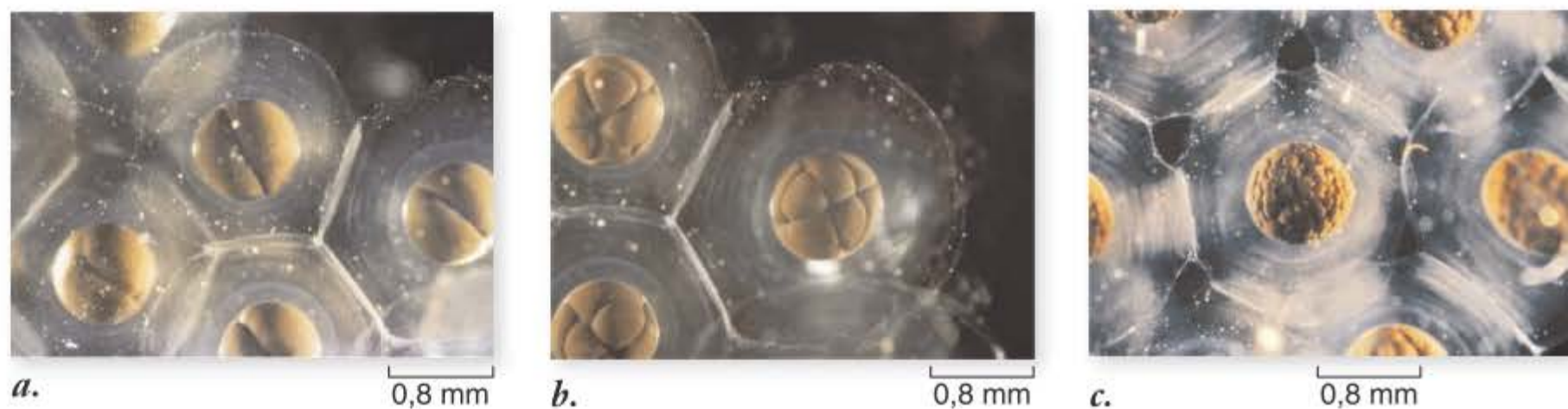
Un des schémas de développement dont la description est la plus complète est celui d'un minuscule nématode, *Caenorhabditis elegans*. Long d'environ 1 mm, l'adulte ne comprend que 959 cellules somatiques.

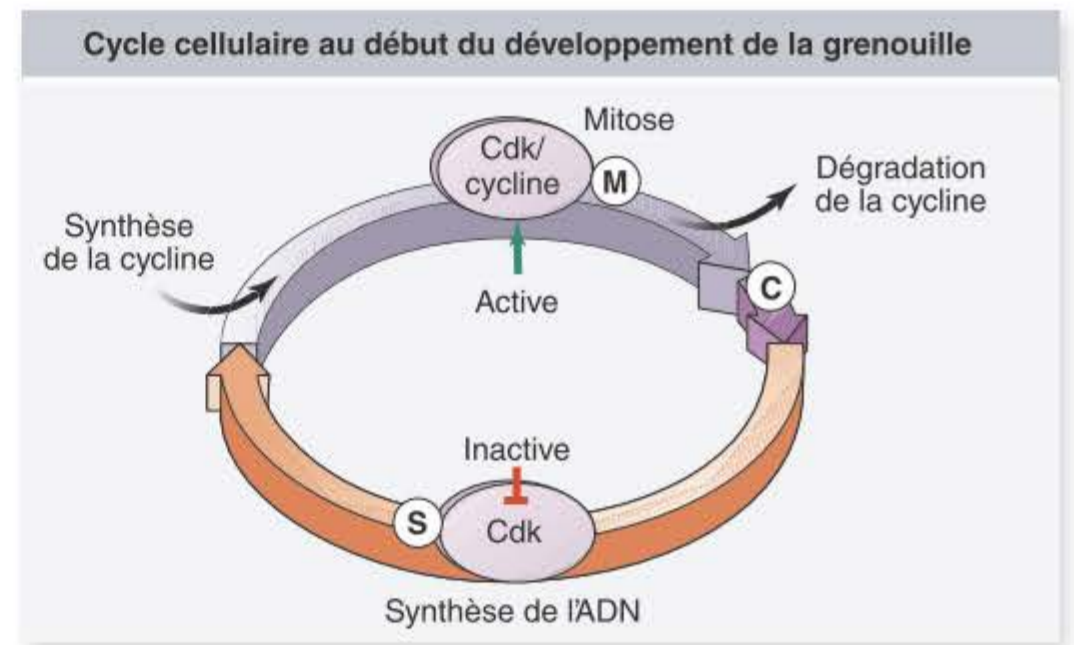
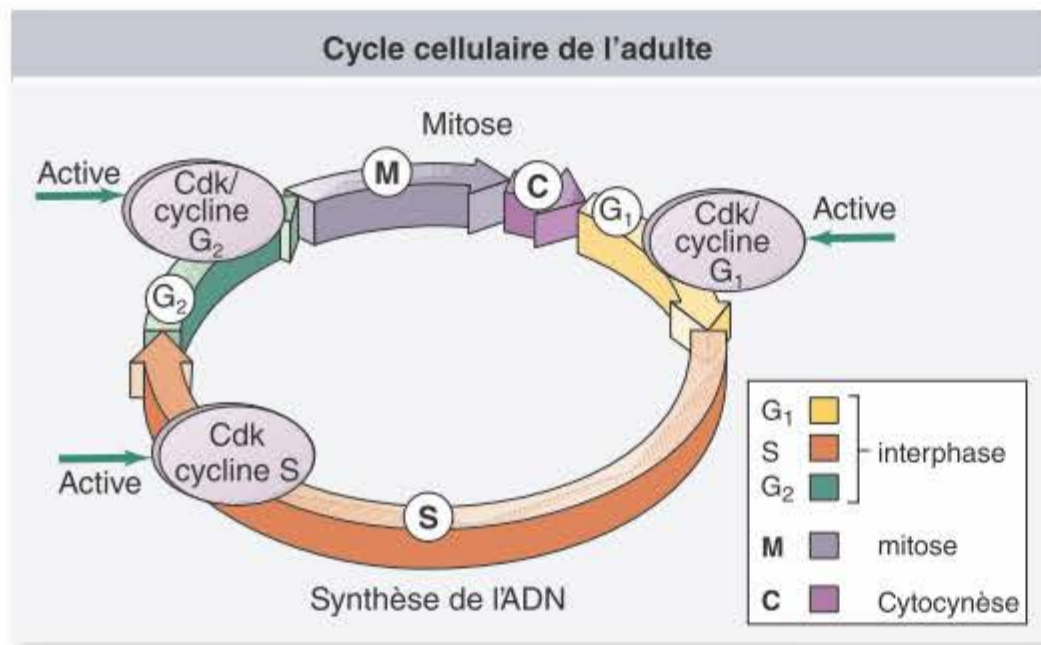
*C. elegans* étant transparent, on peut suivre la division des cellules individuelles. Grâce à ces observations, les chercheurs ont vu comment les différentes cellules de l'animal adulte dérivent du zygote. La carte de la figure 19.3a montre que le zygote se divise en deux cellules filles qui continuent ensuite à se diviser. Chaque ligne horizontale de la figure représente un cycle de division. La longueur des différents traits verticaux représente le temps qui s'écoule entre les divisions cellulaires et chacun aboutit à une cellule complètement différenciée. À la figure 19.3b, les principaux organes du nématode sont représentés par des couleurs correspondant à celles des groupes de cellules dans le schéma.

Certaines de ces cellules différenciées, comme une partie de celles qui sont à l'origine de la cuticule externe, sont « nées » après 8 cycles de divisions cellulaires seulement ; les autres cellules de la cuticule nécessitent jusqu'à 14 cycles. Les cellules du pharynx, l'organe servant à l'alimentation du nématode, sont formées après 9 à 11 cycles de divisions, tandis qu'il faut jusqu'à 17 divisions pour les cellules des gonades.

Exactement 302 cellules nerveuses sont destinées au système nerveux du ver. Exactement 131 sont programmées pour mourir, la plupart pendant les minutes qui suivent leur « naissance ». Le destin de toutes les cellules est parfaitement identique chez tous les individus de *C. elegans*, à l'exception des cellules destinées à devenir des ovules et des spermatozoïdes.

**Figure 19.1** Divisions pendant la segmentation d'un embryon de grenouille. *a.* La première division partage le zygote en deux grands blastomères. *b.* Après deux autres divisions, quatre petits blastomères sont au-dessus de quatre grands, qui continuent tous à se diviser pour donner (*c.*) une masse compacte de cellules.





a.

b.

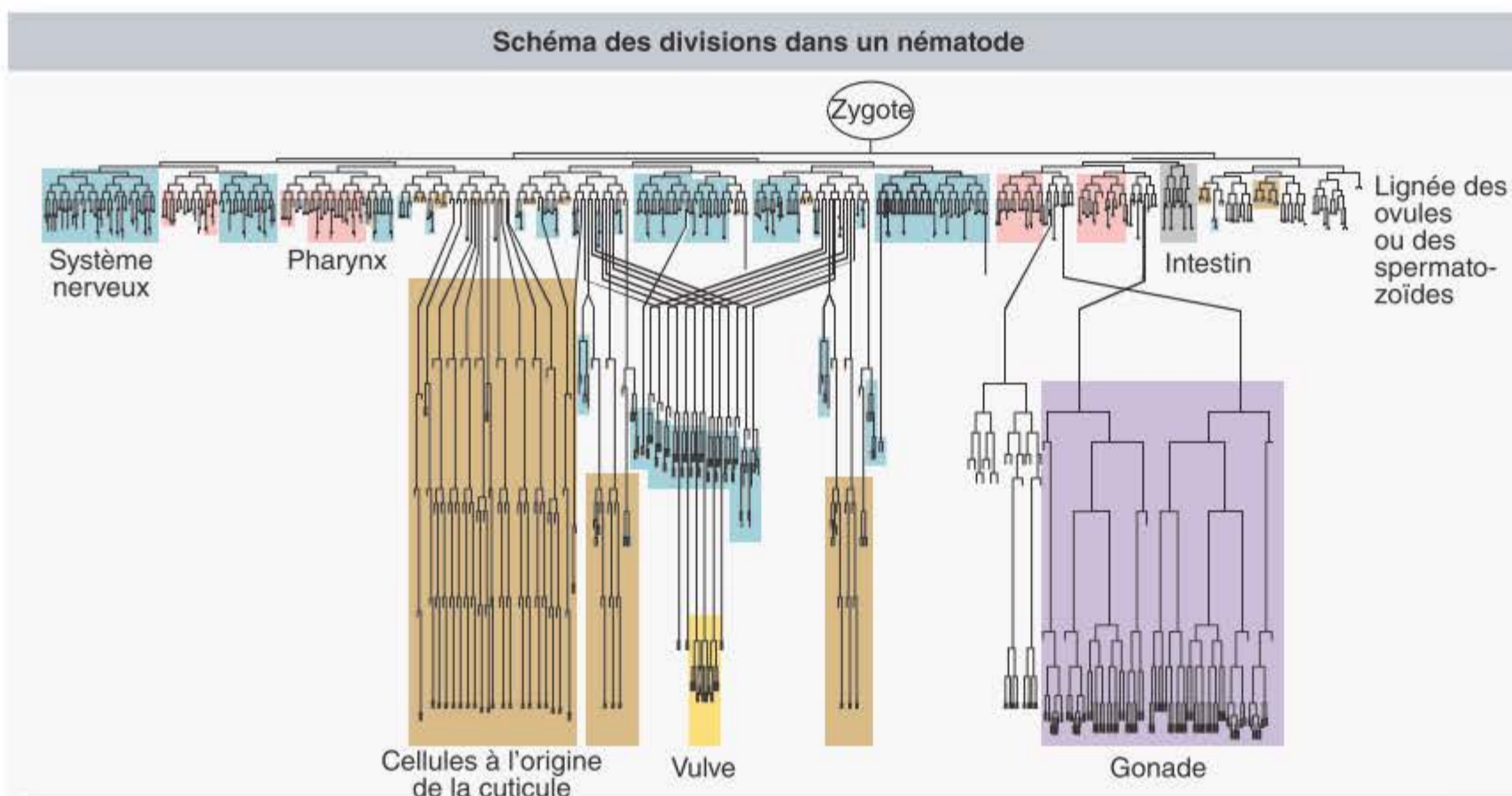
**Figure 19.2 Cycle cellulaire d'une cellule adulte et d'une embryonnaire.** Comparé à celui des cellules somatiques adultes (a), le cycle des cellules en division dans les jeunes embryons de grenouille n'a pas de stades G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> (b), ce qui permet aux noyaux de passer rapidement de la synthèse d'ADN à la mitose pendant la segmentation. Des réserves importantes d'ARNm de cyclines sont présentes dans l'œuf non fécondé. La dégradation périodique des protéines des cyclines est liée à la sortie de mitose. La dégradation des cyclines et l'inactivation de Cdk permettent à la cellule de clôturer la mitose et d'entamer le cycle suivant de synthèse de l'ADN.

### La croissance des plantes dépend de zones spécifiques, les méristèmes

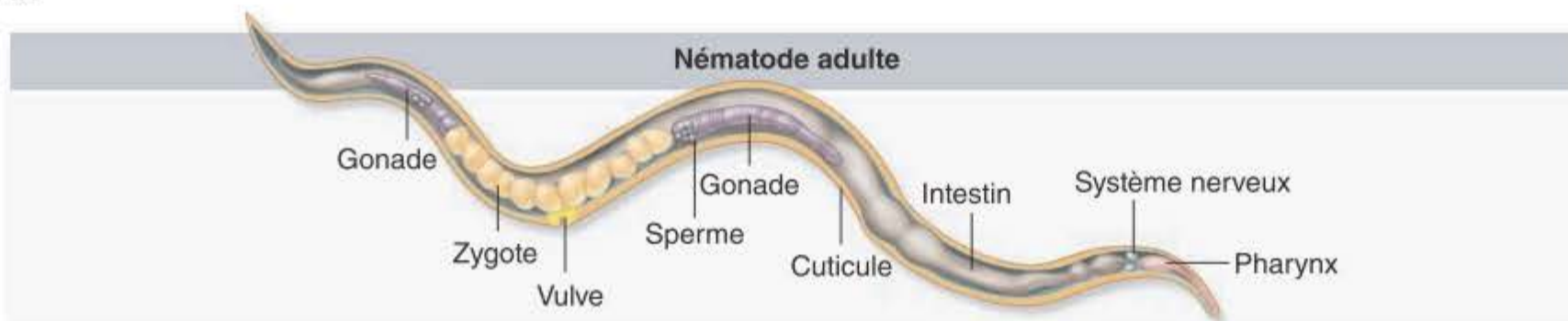
Une différence majeure entre les animaux et les plantes est la mobilité de la plupart des animaux, au moins à certains stades de leur vie : ils peuvent donc échapper aux conditions défavorables. Par contre, les plantes sont ancrées sur place et doivent supporter leur environnement. Cette limitation est compensée par un développement adapté aux conditions locales.

Au lieu de construire un organisme dont chaque partie possède une taille et une localisation définies, la plante s'assemble pendant toute la durée de sa vie à partir de quelques types de modules : les feuilles, les racines, les nœuds et les fleurs. Chaque module possède une structure et une organisation strictement contrôlées, mais les modules fonctionnent d'une manière assez flexible – ils peuvent s'adapter aux conditions environnementales.

Pendant leur développement, les plantes se construisent de l'extérieur, en créant de nouvelles parties aux dépens de groupes de cellules



a.



b.

**Figure 19.3 Étude de la division cellulaire dans l'embryon et du développement chez un nématode.** On a retracé le développement de *C. elegans* de manière à déterminer le sort de chaque cellule à partir du zygote. a. Ce schéma indique le nombre de divisions cellulaires à partir du zygote et les couleurs permettent de retrouver leur localisation dans (b) l'organisme adulte.

souches présentes dans des **méristèmes**. Les cellules souches des méristèmes se divisent sans cesse et donnent naissance à des cellules qui se différencient pour donner les tissus de la plante.

Ce schéma simple montre la nécessité d'un contrôle de la division cellulaire. Nous connaissons l'existence de gènes contrôlant le cycle cellulaire dans la levure (champignon) et dans les cellules animales, ce qui implique qu'il s'agit d'une innovation eucaryote – et le cycle cellulaire des plantes est en fait contrôlé par les mêmes mécanismes, soit par les cyclines et les kinases cycline dépendantes. Lors d'une expérience, la surexpression d'un inhibiteur de Cdk dans des plantes transgéniques d'*Arabidopsis thaliana* a entraîné des modifications importantes de la taille et de la forme des feuilles.

### Questions d'apprentissage 19.2

Dans les embryons animaux, une série de divisions cellulaires rapides, évitant les stades G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>, transforme l'œuf fécondé en un grand nombre de cellules sans augmentation de la taille du zygote. Chez le nématode *C. elegans*, on connaît toutes les divisions cellulaires aboutissant à la forme adulte, et ce schéma est invariable, ce qui permet aux biologistes de suivre le développement cellule par cellule. Chez les plantes, la croissance se limite à des régions spécifiques, les méristèmes, où persistent des cellules souches indifférenciées.

- Quelles sont les différences entre les premières divisions cellulaires d'un embryon et celles d'un organisme adulte ?

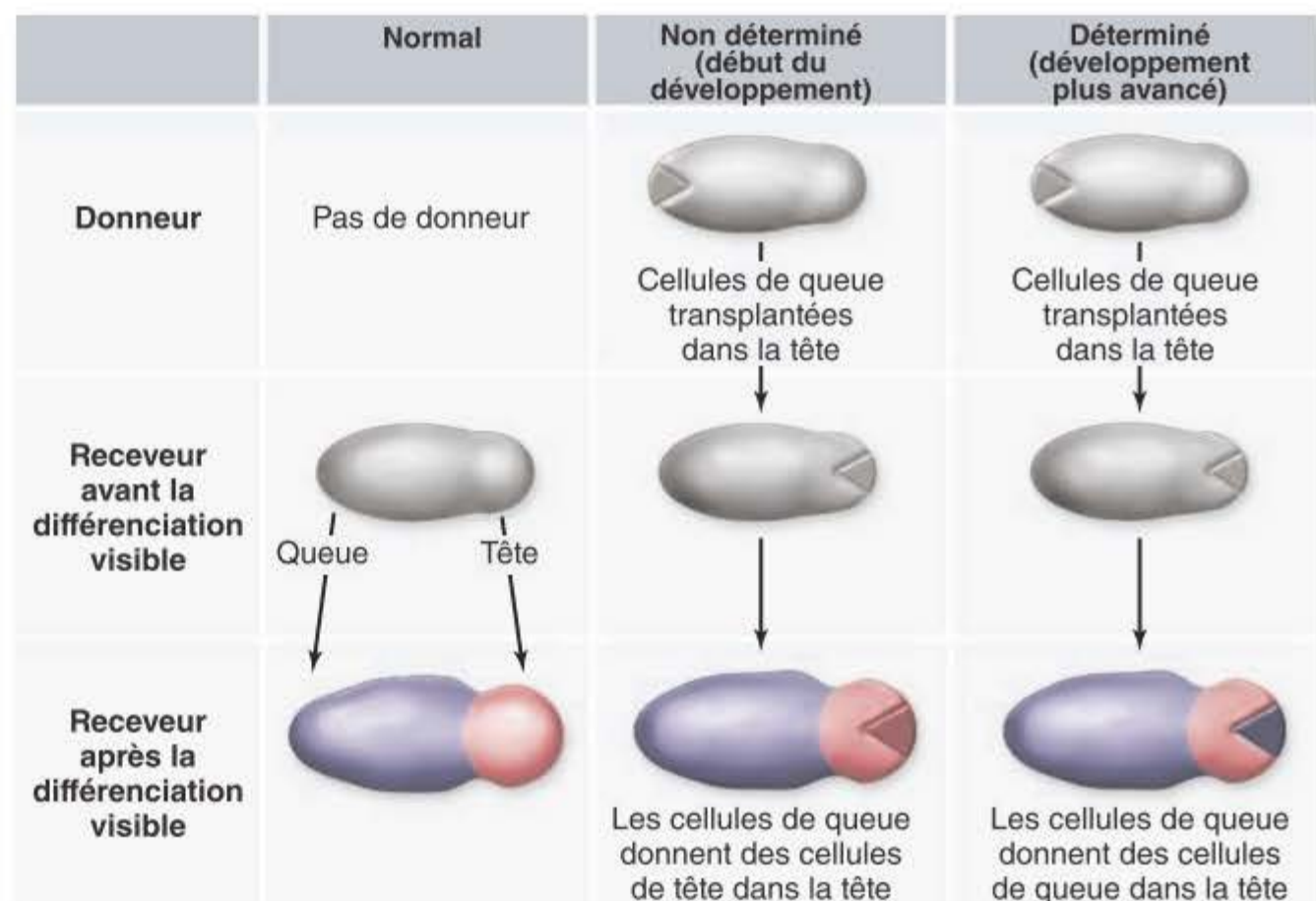
## 19.3 La différenciation cellulaire

### Objectifs

1. Décrire la nature progressive de la détermination.
2. Illustrer, par des exemples, comment les cellules s'engagent dans les voies de développement.
3. Montrer les différences entre les types de cellules souches.

### Figure 19.4 Test standard de la détermination.

Les ovales gris représentent les premiers stades du développement de l'embryon. Les cellules de droite se développent normalement en structures de la tête, tandis que celles de gauche forment normalement celles de la queue. Si l'on transplante des cellules de la future queue d'un jeune embryon à l'autre bout d'un embryon receveur, elles se développent, en accord avec leur nouvelle position, en structure de la tête. Ces cellules ne sont pas déterminées. Aux stades ultérieurs du développement, les cellules de la queue sont déterminées, car elles se développent alors en structures de la queue après leur transplantation à l'extrémité opposée de l'embryon receveur !



Au chapitre 16, nous avons examiné les mécanismes contrôlant l'expression génique des eucaryotes. Ces mécanismes sont essentiels pour le développement des organismes pluricellulaires, où les fonctions vitales sont exercées par des tissus et organes différents. Au cours du développement, les cellules se différencient les unes des autres à cause de l'expression différentielle de lots de gènes – non seulement à des moments différents, mais à des endroits différents de l'embryon en croissance. Nous allons maintenant explorer certains mécanismes qui aboutissent à l'expression différentielle des gènes au cours du développement.

### Les cellules sont déterminées avant de se différencier

L'organisme humain renferme au moins 210 grands types de cellules différenciées. Ces cellules se distinguent les unes des autres par les protéines particulières qu'elles synthétisent, par leur morphologie et par leurs fonctions spécifiques. Une décision moléculaire conduisant à un type particulier de cellule différenciée est prise avant tout changement visible dans la cellule. Ce processus de prise de décision est la **détermination cellulaire** : elle engage la cellule dans une voie de développement particulière.

#### Observation de la détermination

Souvent, la détermination n'est pas visible dans la cellule et ne peut être « vue » que par l'expérimentation. L'expérience standard pour tester la détermination d'une cellule ou d'un groupe de cellules est leur transfert à un autre endroit d'un embryon hôte (récepteur). Si les cellules du transplant donnent le même type de cellules qu'à leur site d'origine, on considère qu'elles sont déjà déterminées (figure 19.4).

La détermination dépend d'une série d'événements intrinsèques ou extrinsèques, ou des deux. Par exemple, une cellule de la future région cervicale de l'embryon d'amphibien au début du stade gastrula (voir chapitre 54) n'a pas encore été déterminée ; si elle est transplantée ailleurs dans l'embryon, elle se développera en fonction de l'endroit où on la place. À la fin du stade gastrula cependant, de nouvelles interactions cellulaires sont intervenues, la détermination est effective, et la cellule se développera en cellule nerveuse où qu'elle soit transplantée.

La détermination passe parfois par des paliers, au cours desquels la cellule est d'abord partiellement engagée, reçoit des étiquettes de position qui traduisent sa position dans l'embryon. Ces étiquettes peuvent influencer fortement le plan de développement ultérieur de l'organisme. Dans l'embryon de poulet, le tissu qui donnera le bourgeon de la patte produit normalement une cuisse. Si ce tissu est transplanté à l'extrémité du bourgeon de l'aile, qui lui est identique et devrait normalement donner le bout de l'aile, il se développe en cuisse. Le tissu a déjà été déterminé comme patte, mais pas pour donner une partie spécifique de la patte. Il peut donc être influencé par des signaux à l'extrémité du bourgeon de l'aile pour former une extrémité (mais, dans ce cas, une extrémité de patte).

### Base moléculaire de la détermination

Les cellules commencent à modifier leur développement grâce à des facteurs de transcription qui modifient le mode d'expression des gènes. Quand les gènes codant ces facteurs de transcription sont activés, leur propre activation est renforcée. Ce renforcement déclenche le déterminisme du développement et une succession d'événements aboutissant à une voie particulière de développement.

Après l'activation d'un lot de gènes de régulation, les cellules ne peuvent se différencier effectivement qu'après un certain temps, quand d'autres facteurs interagissent avec les protéines de régulation et font qu'elles activent encore d'autres gènes. Néanmoins, dès que cet « interrupteur » initial est tourné, la cellule est totalement engagée dans la voie de son futur développement.

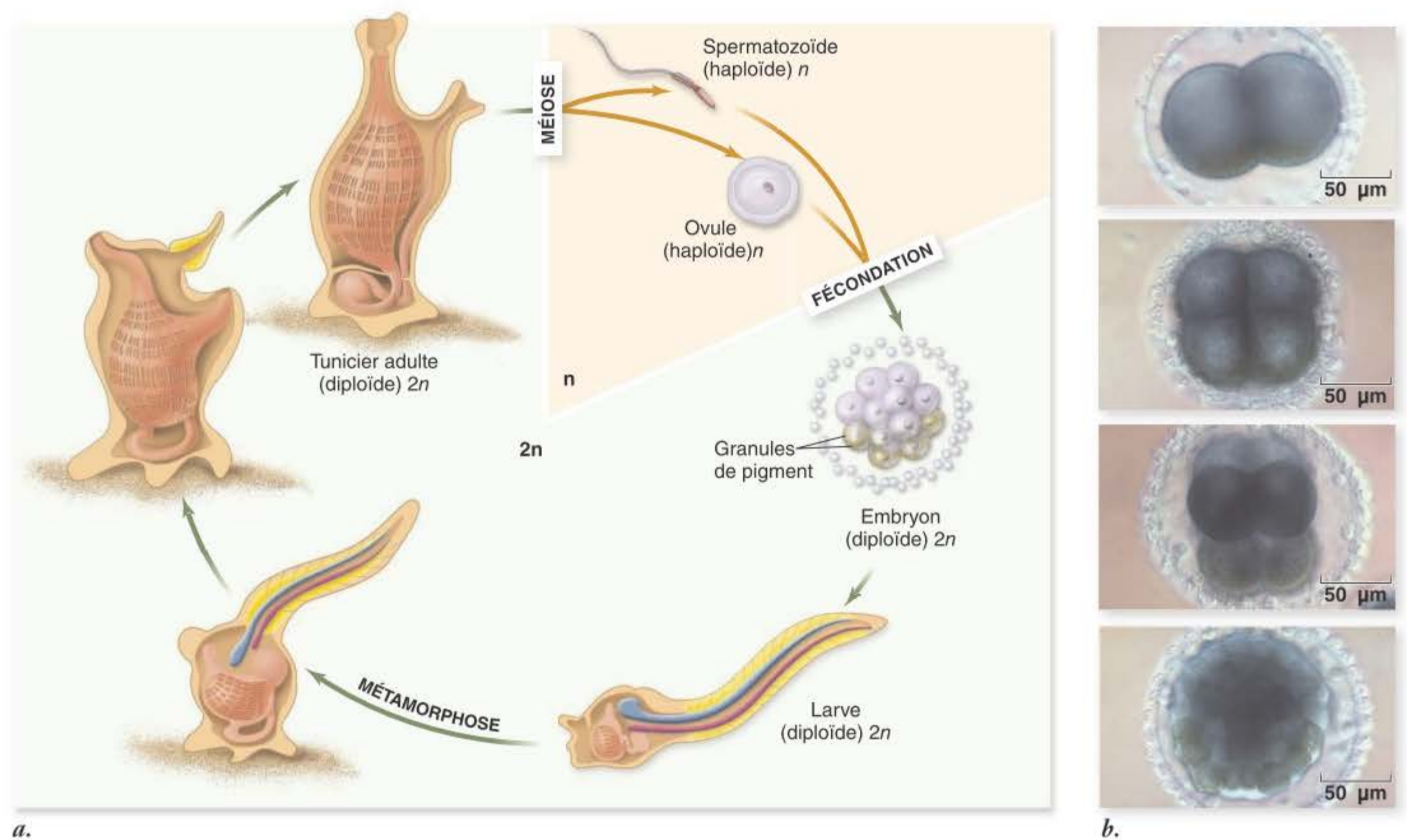
Les cellules sont obligées de suivre une voie particulière de deux façons :

1. par une hérédité différentielle de déterminants cytoplasmiques et/ou nucléaires produits par la mère et déposés dans l'ovule pendant l'ovogenèse ou produits par l'ovocyte lui-même dans l'ovaire maternel ; ou
2. par des interactions entre cellules.

On peut comparer le premier cas au statut social d'un individu déterminé par celui de ses parents et par ce qu'il en a reçu. Dans le second cas, le niveau social de l'individu est déterminé par des interactions avec son environnement. Il est clair que ce sont deux facteurs importants pour le développement et la maturation de cet individu.

### La détermination peut être due à des déterminants cytoplasmiques

Beaucoup d'embryons d'invertébrés sont de bons exemples de détermination cellulaire due à l'hérédité différentielle de déterminants cytoplasmiques. Les tuniciers sont des invertébrés marins (voir chapitre 35), et la plupart des adultes sont des organismes simples, en forme de sacs fixés à leur substrat. On les classe cependant dans l'embranchement des chordés parce que leur stade larvaire présente des caractéristiques semblables à celles des têtards mobiles, pourvus d'un cordon nerveux dorsal et d'une notocorde (figure 19.5a). Les muscles de la queue se développent des deux côtés de la notocorde.



**Figure 19.5 Déterminants des muscles chez les tuniciers.** *a.* Cycle vital d'un tunicier solitaire. Les cellules musculaires de la queue du têtard mobile sont disposées des deux côtés de la notocorde et du cordon nerveux. La queue disparaît au cours du passage à l'adulte sédentaire. *b.* L'œuf du tunicier *Styela* contient des granules de pigment jaune vif. Ils se placent asymétriquement dans l'œuf après la fécondation, et les cellules qui reçoivent les granules jaunes pendant la segmentation deviennent des cellules musculaires dans la larve. On voit des embryons aux stades 2, 4, 8 et 64 cellules. La queue du têtard se développera à partir de la région inférieure de l'embryon de la figure du bas.

Dans beaucoup d'espèces de tuniciers, des granules de pigment jaune sont situés asymétriquement dans l'ovule avant la fécondation, puis ils se répartissent dans les futures cellules musculaires de la queue pendant la segmentation (figure 19.5b). Quand on fait passer expérimentalement ces granules pigmentés dans d'autres cellules qui ne se développent normalement pas en muscles, l'évolution de ces cellules est modifiée et elles deviennent des cellules musculaires. Les molécules qui déclenchent le développement des muscles paraissent donc associées aux granules pigmentés.

L'étape suivante est l'identification des molécules impliquées. Les expériences montrent que le parent femelle fournit à l'ovule l'ARNm codé par le gène *macho-1*. Sans l'expression de *macho-1*, le muscle de la queue du têtard ne se développe pas et une expression anormale de l'ARNm de *macho-1* conduit à la formation de cellules musculaires supplémentaires à partir d'autres souches cellulaires. On a montré que le produit du gène *macho-1* est un facteur de transcription capable d'activer l'expression de plusieurs gènes spécifiques du muscle.

## L'induction peut aboutir à la différenciation cellulaire

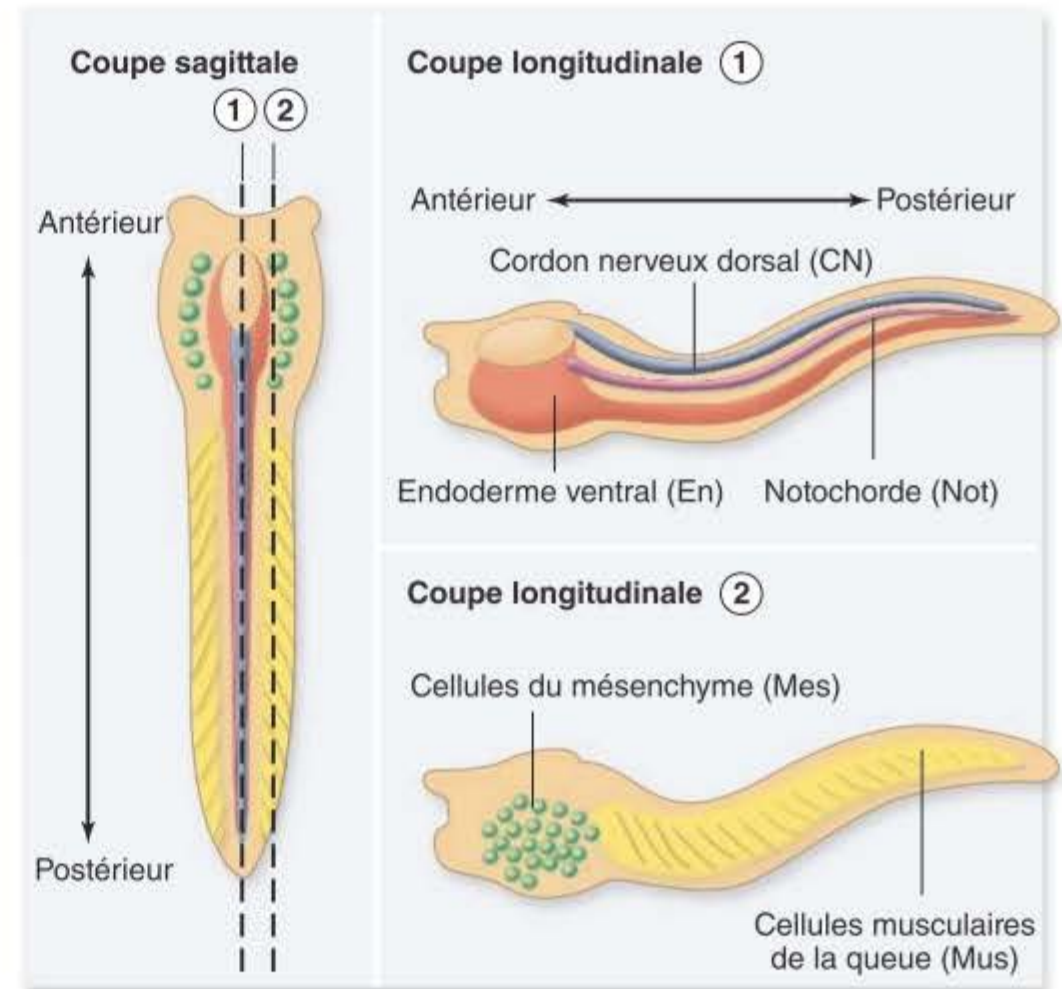
Au chapitre 9, nous avons examiné plusieurs voies de communication entre les cellules. On peut prouver l'importance, pour le développement, des interactions entre cellules en séparant les cellules d'un jeune embryon de grenouille et en les laissant se développer indépendamment.

Dans ces conditions, les blastomères d'un pôle de l'embryon (le « pôle animal ») développent les caractères d'un ectoderme et ceux de l'autre pôle (le « pôle végétatif ») développent les caractères de l'endoderme. Aucun de ces deux groupes séparés ne développe jamais des caractéristiques du mésoderme, le troisième grand type cellulaire. Cependant, si l'on place côte à côte des cellules du pôle animal et du pôle végétal, certaines cellules du pôle animal se développent en mésoderme. L'interaction entre les deux types de cellules déclenche le développement de ces cellules. Cette modification de la destinée des cellules par interaction avec une cellule voisine est l'**induction**. Des molécules de signalisation influencent la différenciation dans les cellules cibles ; dans ce cas, certaines cellules du pôle animal.

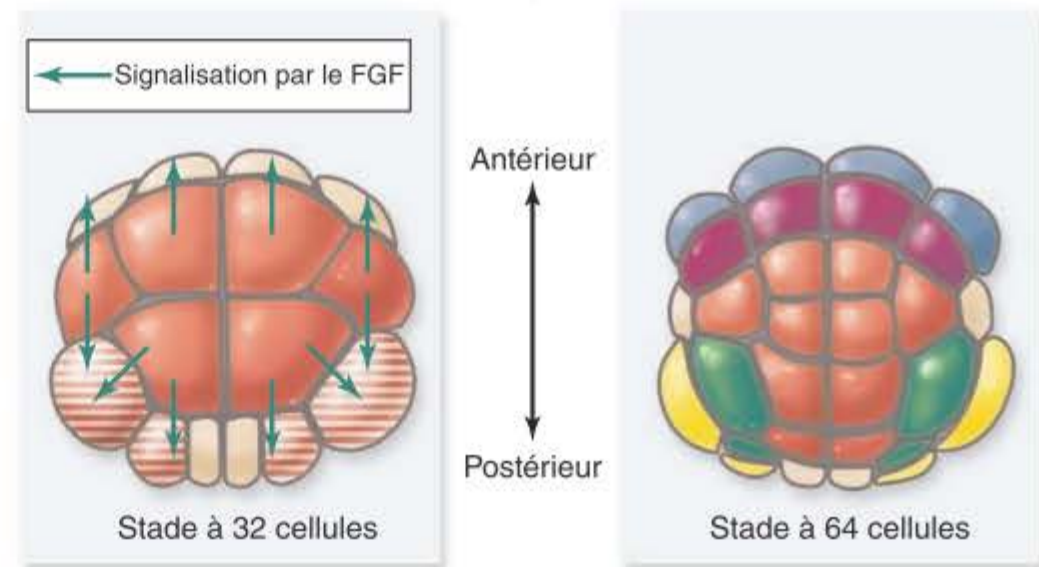
Un autre exemple d'interaction inductrice est la formation de la notocorde et du mésenchyme, un tissu spécifique, dans les embryons de tuniciers. Muscle, notocorde et mésenchyme dérivent tous de cellules du mésoderme qui se forment à la marge végétale de l'embryon au stade de 32 cellules. Ces cellules destinées à devenir le mésoderme reçoivent des signaux des cellules sous-jacentes de l'endoderme, entraînant la formation de la notocorde et du mésenchyme (figure 19.6).

Le signal chimique provient de molécules de signalisation de la famille des *facteurs de croissance des fibroblastes* (FGF, pour *fibroblast growth factors*). Il induit la différenciation des cellules de la zone marginale adjacente soit en notocorde (dans la région dorsale de l'embryon), soit en mésenchyme (dans la région ventrale de l'embryon). Le récepteur du FGF dans les cellules de la marge est une protéine transmembranaire à activité tyrosine kinase qui, par une cascade de MAP kinases, active un facteur de transcription qui déclenche l'expression génique et la différenciation (figure 19.7).

C'est aussi un exemple de réponse différente de deux cellules à un même signal. La présence ou l'absence de *macho-1* déterminant le



a.

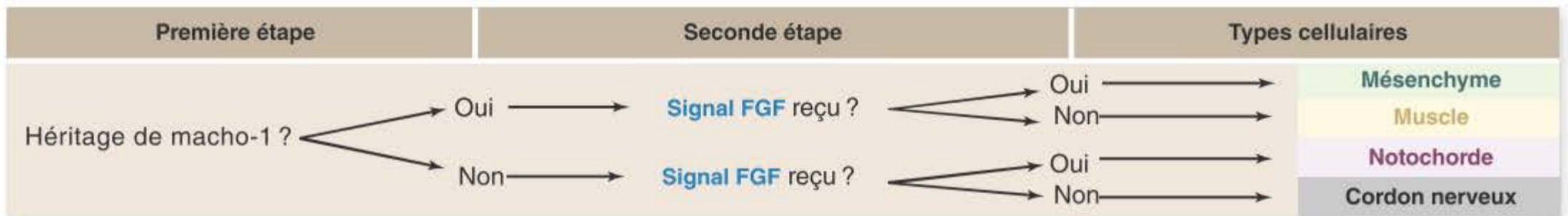


b.

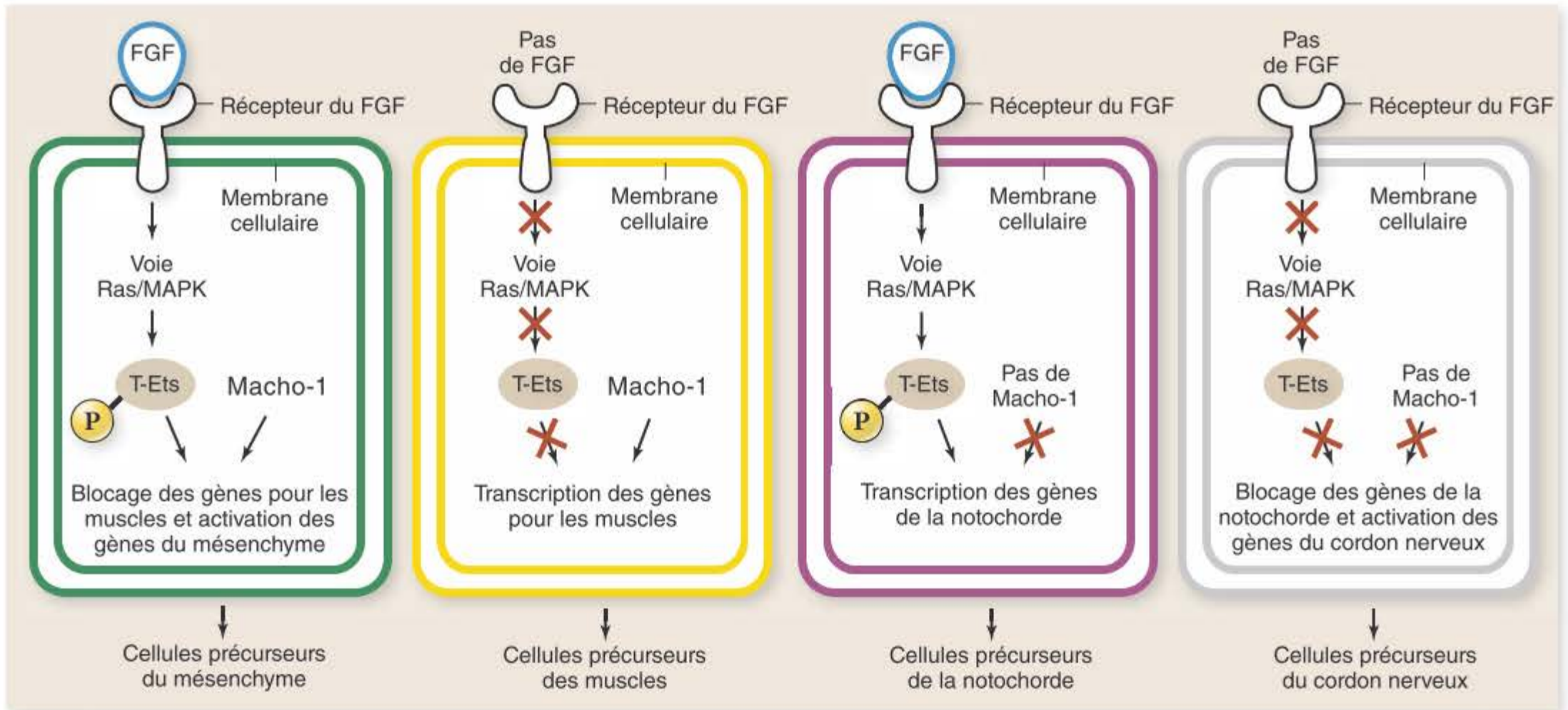
c.

**Figure 19.6 Des interactions interviennent dans la spécification des cellules des embryons de tunicier.** a. Structures internes d'une larve de tunicier. À gauche : coupe sagittale de la larve, les traits interrompus indiquant deux coupes longitudinales. La coupe 1, passant par le centre d'une larve, montre le cordon nerveux (CN), la notocorde qui l'entoure (Not) et les cellules de l'endoderme ventral (En). La coupe 2, plus latérale, montre les cellules du mésenchyme (Mes) et les cellules musculaires de la queue (Mus). b. Stade à 32 cellules, montrant les cellules à l'origine de l'endoderme. Le FGF sécrété par ces cellules est représenté par les flèches vertes. Seules les surfaces des cellules marginales directement voisines des précurseurs de l'endoderme fixent les molécules de transmission FGF. Notez que les blastomères végétatifs postérieurs renferment aussi les déterminants *macho-1* (bandes rouges et blanches). c. Le sort des cellules a été fixé au stade 64 cellules. Les couleurs sont les mêmes qu'en (a). Les cellules situées en dessous des précurseurs de l'endoderme deviennent la notocorde et le cordon nerveux, alors que celles qui touchent la marge supérieure de ces précurseurs deviennent le mésenchyme et les cellules musculaires.

muscle, dont il a été question, contrôle cette évolution différente des cellules. En présence de *macho-1*, les cellules se différencient en mésenchyme ; en son absence, elles donnent la notocorde. La combinaison de *macho-1* et de la signalisation par FGF aboutit ainsi à quatre types différents de cellules (figure 19.7).



a.



b.

**Figure 19.7** Schéma montrant la spécification des cellules par le déterminant des muscles *Macho-1* et la signalisation par FGF.

a. Schéma en deux étapes de la spécification des cellules végétales marginales de l'embryon des tuniciers. La première étape est la transmission éventuelle de l'ARNm *macho-1* des muscles. La seconde étape est la transmission de FGF à partir de cellules contiguës destinées à donner l'endoderme. b. Les cellules marginales végétales postérieures héritent de l'ARNm *macho-1*. Le signal apporté par FGF active une voie de la Ras/MAP kinase qui synthétise le facteur de transcription T-Ets. La protéine *Macho-1* et T-Ets bloquent les gènes spécifiques des muscles et enclenchent les gènes spécifiques du mésoenchyme (*cellules vertes*). Dans les cellules avec *Macho-1* qui ne reçoivent pas le message FGF, *Macho-1* seul enclenche les cellules spécifiques des muscles (*cellules jaunes*). Les cellules marginales végétales antérieures ne reçoivent pas l'ARNm *macho-1*. Si ces cellules reçoivent le signal FGF, T-Ets enclenche les gènes spécifiques de la notochorde (*cellules pourpres*). Dans les cellules dépourvues de *Macho-1* et FGF, les gènes spécifiques de la notochorde sont bloqués et les gènes spécifiques du cordon nerveux sont activés (*cellules grises*).



**Analyse des données** Quel type de cellules obtiendriez-vous en injectant dans des embryons un réactif bloquant le récepteur de FGF, empêchant ainsi le transfert de l'information ? Quel serait le résultat avec un réactif ferait que le récepteur de FGF soit toujours actif ?

## Les cellules souches peuvent se diviser et donner des cellules qui se différencient

Au cours du développement, et même dans l'animal adulte, il est important de mettre en réserve des cellules capables de se diviser, mais qui ne sont pas déterminées dans un sens précis. Ces cellules capables de poursuivre leurs divisions, mais aussi de donner naissance à des cellules différenciées, sont les **cellules souches**. On peut définir ces cellules en fonction de leur niveau de détermination. D'un côté, nous avons une cellule **totipotente**, si elle peut donner naissance à n'importe quel tissu de l'organisme. Chez les mammifères, les seules cellules capables de donner l'embryon et les membranes qui l'entourent sont le zygote et les premiers blastomères dérivés des quelques pre-

mières divisions cellulaires. Les cellules capables de donner toutes les cellules de l'organisme sont **pluripotentes**. Une cellule souche capable de donner naissance à un nombre limité de types cellulaires, comme celles qui sont à l'origine des différents types de cellules sanguines, sont **multipotentes**. Enfin, les cellules souches **unipotentes** ne donnent qu'un seul type cellulaire, comme celles qui sont à l'origine des spermatozoïdes chez les mâles.

## Les cellules souches embryonnaires sont des cellules pluripotentes dérivées des embryons

Les cellules souches embryonnaires (cellules SE) représentent une forme de cellules souches obtenues en laboratoire. Ces cellules proviennent

d'embryons de mammifères qui ont formé une sphère de cellules (blastocyste) par segmentation. Le blastocyste consiste en une sphère externe de cellules, le trophoctoderme, qui donnera des structures extra-embryonnaires, comme le placenta, et d'une masse interne de cellules qui formeront l'embryon (voir les détails au chapitre 53). On peut isoler des cellules souches de cette masse cellulaire interne et les mettre en culture (figure 19.8). Chez les souris, on a montré qu'elles sont capables de donner tous les types de cellules des tissus de l'adulte. Elles ne peuvent cependant pas donner naissance aux tissus extra-embryonnaires qui se forment au cours du développement : elles ne sont donc pas totipotentes, mais pluripotentes.

Après qu'on les eut trouvées chez les souris, la découverte des cellules SE humaines n'était qu'une question de temps. En 1998, les premières cellules souches humaines (cellules SEh) furent isolées et mises en culture. Il y a des différences entre les cellules souches de l'homme et des souris, mais elles sont essentiellement semblables. Ces cellules souches embryonnaires ouvrent de grandes perspectives pour la médecine régénérative parce qu'elles sont capables de produire tous les types de cellules que nous allons décrire. Ces cellules ont aussi été à l'origine de nombreuses controverses et d'un débat éthique en raison de leur origine embryonnaire.

### Différenciation en culture

Outre leur utilisation thérapeutique possible, les cellules SE permettent d'étudier le processus de différenciation en culture. La manipulation de ces cellules par modification des milieux de culture permet de faire un tri parmi les facteurs intervenant dans la différenciation au niveau même où les cellules entament ce processus. Les premières tentatives de différenciation in vitro étaient handicapées par les conditions de culture. Dans les premières expériences, le milieu contenait du sérum de fœtus de veau (fréquent dans les cultures de tissus), mal défini et différent d'un cas à l'autre. On a ensuite trouvé des conditions de culture plus précises et amélioré la reproductibilité dans le contrôle de la différenciation in vitro.

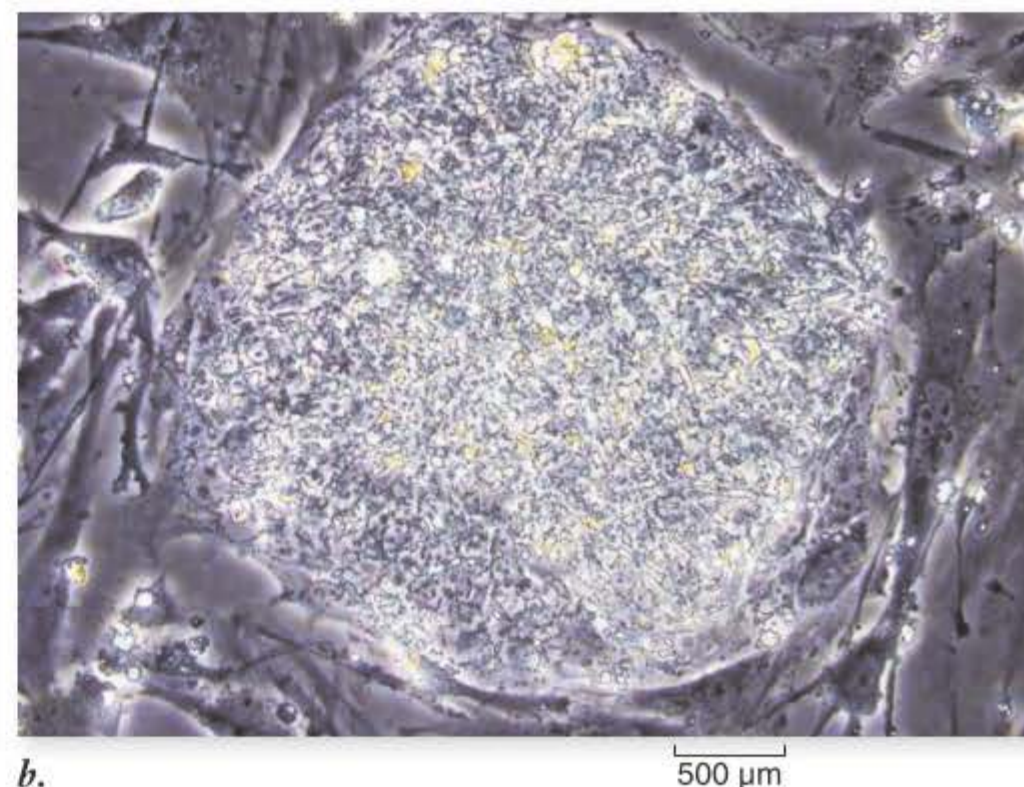
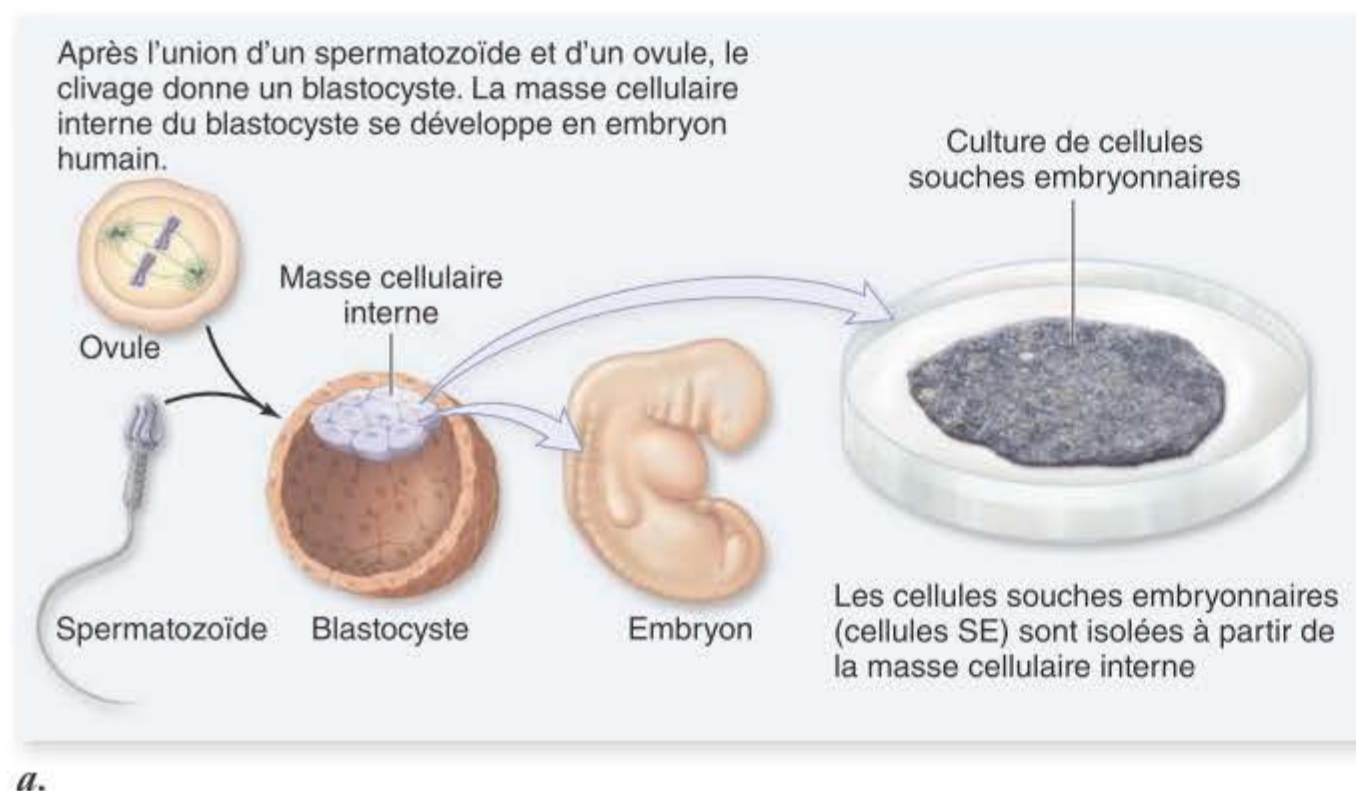
Grâce aux milieux de culture mieux définis, on a reproduit en culture les premières étapes du développement de la souris dans des cellules SE. À partir de cellules SE de souris, on peut donc obtenir d'abord l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme, puis ces trois types de cellules donneront les différentes assises germinales correspondant à leur détermination. Ce travail en est encore à ses prémices, mais il est extrêmement passionnant et il promet d'élucider les bases moléculaires des étapes de la détermination des différents types cellulaires.

Chez les humains, on a obtenu différents types cellulaires en culture à partir de cellules SE. Par exemple, on a montré que ces cellules donnent naissance aux différents types de cellules sanguines en culture. On travaille à la production de cellules souches hématopoïétiques in vitro, pour remplacer ces cellules chez des patients souffrant de maladies affectant les cellules sanguines. Les cellules SE humaines ont aussi été utilisées pour produire en culture des cardiomyocytes. Ces cellules pourraient servir à remplacer les tissus du cœur après des crises cardiaques.

### Questions d'apprentissage 19.3

La différenciation cellulaire est précédée de la détermination, qui engage la cellule non encore différenciée dans un type de développement. L'hérédité différentielle de facteurs cytoplasmiques et/ou nucléaires peut entraîner la détermination et la différenciation, de même que les interactions entre cellules voisines (induction). Dans l'induction, les modifications sont dues à des molécules de signalisation qui enclenchent des voies de transduction de signaux dans les cellules cibles. Les cellules souches sont capables de se diviser indéfiniment et peuvent être à l'origine de cellules différenciées. Les cellules souches embryonnaires sont des cellules pluripotentes capables de donner naissance à toutes les structures adultes.

- Comment pourriez-vous savoir si une cellule est déterminée par induction ou à cause de facteurs cytoplasmiques ?



**Figure 19.8** Isolement de cellules souches embryonnaires. *a.* Les premières divisions cellulaires aboutissent au stade blastocyste, consistant en une assise externe et une masse cellulaire interne, qui évoluera en embryon. On peut isoler les cellules souches embryonnaires (cellules SC) à ce stade en détruisant l'embryon et en mettant les cellules en culture. Les cellules souches prélevées de blastocystes de six jours peuvent être cultivées et rester indéfiniment indifférenciées. *b.* Cellules souches embryonnaires humaines. Cette masse est une colonie de cellules souches embryonnaires humaines indifférenciées étudiées dans le laboratoire du biologiste du développement James Thomson à l'Université du Wisconsin, à Madison.

## 19.4 La reprogrammation nucléaire

### Objectifs

1. **Montrer les différences entre les modes de reprogrammation nucléaire.**
2. **Montrer les différences entre clonages reproducteur et thérapeutique.**

Le processus qui va d'un zygote unicellulaire à un animal multicellulaire complexe n'implique aucune modification irréversible de l'ADN. Les modifications à la base de la détermination et de la différenciation sont donc des processus **épigénétiques**. Une modification épigénétique ne modifie pas l'ADN, mais elle persiste au cours des divisions cellulaires. Ces changements peuvent être une méthylation de l'ADN ou une modification des histones susceptible d'affecter la structure de la chromatine et l'expression des gènes (voir chapitre 16). Au cours du développement normal, ce programme épigénétique passe des cellules différenciées adultes aux cellules germinales, puis au zygote lui-même.

### Le clonage a été possible en inversant la détermination

L'histoire de la reprogrammation expérimentale des noyaux est longue et intéressante. Il est bon de connaître le mécanisme de base et aussi d'envisager la production de populations d'un type spécifiques de cellules d'un patient pour remplacer des cellules perdues par maladie ou blessure. Cela nous a conduit à une voie fascinante, tortueuse et sinueuse, qui se poursuit aujourd'hui.

Des expériences entreprises dans les années 1950 ont montré que des cellules isolées de tissus totalement différenciés d'une plante adulte pouvaient se développer en plantes complètes. Les cellules de l'embryon de mammifère au début de la segmentation sont également totipotentes. Quand les embryons de mammifères se divisent naturellement en deux parties, on obtient des jumeaux identiques. Si des blastomères sont séparés, chacun peut produire un individu parfaitement normal. En fait, on a utilisé ce moyen pour produire quatre ou huit descendants identiques pour la sélection commerciale de lignées particulièrement intéressantes de bovidés.

### Premières recherches chez les batraciens

En biologie du développement, la première question était de savoir si la différenciation des cellules impliquait des modifications irréversibles. Les expériences réalisées dans les années 1950 par Briggs et King, puis par John Gurdon dans les années 1970, ont montré la possibilité de transférer des noyaux entre cellules. Avec de très fines pipettes, ces chercheurs aspiraient le noyau d'un ovule de grenouille ou de crapaud et le remplaçaient par un noyau aspiré d'une cellule somatique d'un autre individu.

Les conclusions de ces expériences sont quelque peu contradictoires. D'un côté, les cellules ne semblent pas subir de modifications totalement irréversibles, comme la perte de gènes. D'autre part, le noyau transplanté a d'autant plus de peine à diriger le développement que la cellule est plus différenciée. On en est arrivé à l'idée de la *repro-*

*grammation nucléaire* : le noyau d'une cellule différenciée subit des modifications **épigénétiques** qui doivent être inversées pour lui permettre de diriger le développement. Les premiers travaux sur les amphibiens ont montré la possibilité de reprogrammer les noyaux des cellules intestinales des têtards pour produire des grenouilles adultes viables. On peut considérer ces animaux comme des clones, mais cela prouve aussi la possibilité de reprogrammer complètement les noyaux des têtards. Les cellules différenciées adultes ne pouvaient cependant donner que des têtards, mais pas des adultes fertiles viables. Ces travaux montrent donc que les noyaux adultes ont un potentiel de développement remarquable, mais qu'ils ne peuvent être reprogrammés au point de devenir totipotents.

### Premières recherches sur les mammifères

En se basant sur les travaux réalisés chez les amphibiens, on a fait beaucoup d'essais de transfert de noyaux chez les mammifères, et d'abord chez les souris et les bovins. Non seulement on n'a pas obtenu des clones d'animaux, mais ces travaux ont abouti à la découverte des empreintes, avec la production d'embryons à caractères uniquement maternels ou paternels (d'autres informations sur les empreintes sont données au chapitre 13). Ces embryons ne se sont jamais développés et ils montraient des déficiences différentes suivant qu'ils avaient reçu le génome maternel ou paternel.

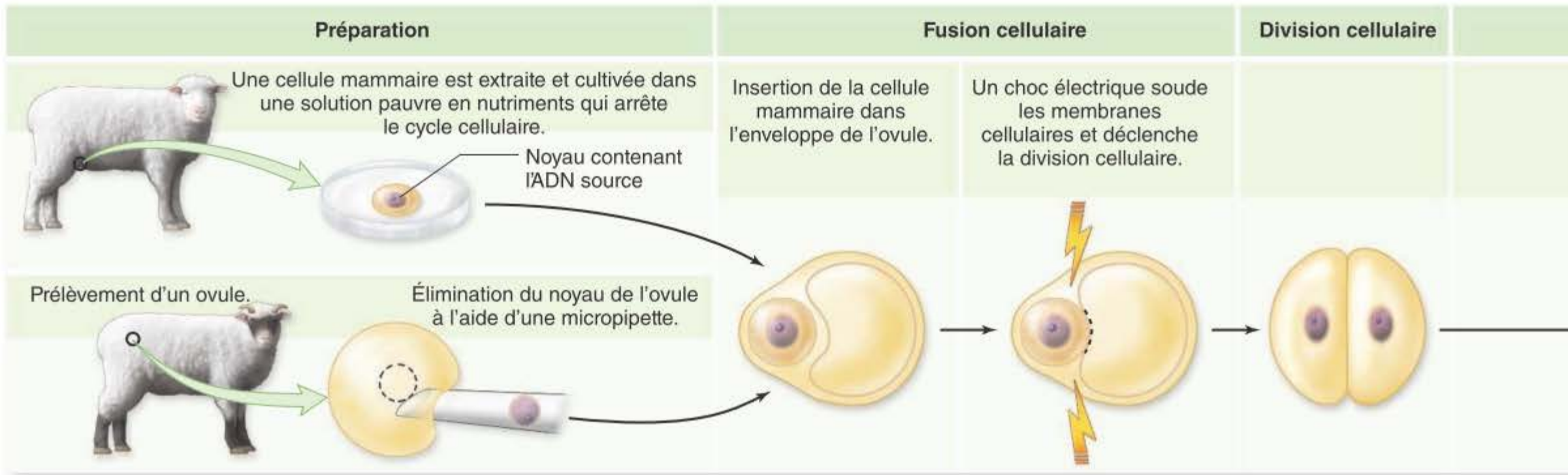
### Réussite d'une transplantation nucléaire chez les mammifères

Cette situation a perduré jusqu'au clonage d'un mouton au départ d'un noyau provenant d'une cellule de jeune embryon, en 1984. La clé du succès était le choix d'une cellule au tout début du développement. Ce résultat passionnant fut rapidement reproduit par d'autres dans une série d'autres organismes, comme les porcs et les singes. Seules les jeunes cellules embryonnaires semblaient cependant fonctionner.

Les généticiens de l'Institut Roslin, en Écosse, ont pensé que l'ovule et le noyau transféré devraient peut-être se trouver au même stade du cycle cellulaire pour permettre le développement. Pour tester cette idée, ils effectuèrent l'expérience suivante (figure 19.9) :

1. Ils prélevèrent des cellules mammaires différenciées du pis d'un mouton de six ans. Les cellules furent mises en culture, puis on diminua notablement la concentration des nutriments du sérum pendant cinq jours, provoquant une pause au début du cycle cellulaire.
2. Dans une préparation parallèle, on enleva le noyau d'ovules provenant d'une brebis.
3. En janvier 1996, on combina les cellules mammaires et les ovules par transfert de noyaux de cellules somatiques. On introduisit les noyaux mammaires dans les ovules.
4. Vingt-neuf des 277 cellules fusionnées se développèrent en embryons qui furent implantés dans la matrice de mères porteuses.
5. Un peu plus de cinq mois plus tard, le 5 juillet 1996, une brebis donna naissance à un agneau nommé Dolly, premier clone obtenu à partir d'une cellule animale complètement différenciée.

Dolly devint une brebis adulte, fut capable de se reproduire de façon traditionnelle et donna six descendants. Dolly montrait donc sans discussion possible la possibilité d'inverser la détermination chez les animaux – qu'avec de bonnes techniques, le noyau d'une cellule totalement différenciée peut être reprogrammée et devenir totipotente.



**Figure 19.9** Preuve que la détermination est réversible chez les animaux. Les scientifiques ont réuni un noyau de cellule mammaire et un ovule énucléé pour cloner avec succès un mouton, appelé Dolly, qui s'est développé en adulte normal et a donné une descendance normale. Cette expérience, premier clonage réussi d'un animal adulte, montre qu'une cellule adulte différenciée peut être à l'origine d'un développement complet.

**Analyse des données** Le mouton dont provient le noyau était pigmenté autrement que celui dont provient l'ovocyte. Pourquoi est-ce important, et à quel animal ressemble Dolly ?

## Il existe des problèmes inhérents au clonage reproducteur

On parle de **clonage reproducteur** pour désigner le processus qui vient d'être décrits : en transférant un noyau, les scientifiques créent un animal génétiquement identique à un autre. Depuis l'annonce de la naissance de Dolly en 1997, ils ont réussi à cloner un ou plusieurs chats, lapins, rats, souris, vaches, chèvres, porcs et mulets. On a toujours utilisé l'une ou l'autre cellule adulte.

### Faible taux de réussite et maladies liées à l'âge

Dans tous les clonages reproducteurs, l'efficacité est plutôt faible – 3-5 % seulement des noyaux transférés aux ovules ont abouti à des naissances vivantes. En outre, beaucoup de clones meurent peu après leur naissance, suite à des maladies du foie ou à des infections. Beaucoup sont devenus anormalement grands : on parle du *syndrome des descendants de grande taille*. En 2003, trois des quatre porcelets clonés sont devenus adultes, mais tous les trois sont morts subitement de troubles cardiaques avant l'âge de 6 mois.

Dolly elle-même fut euthanasiée à l'âge relativement jeune de six ans. Bien qu'elle ait été supprimée à cause d'un cancer des poumons d'origine virale, on avait diagnostiqué une arthrite à un stade avancé un an plus tôt. Une difficulté de l'ingénierie génétique et du clonage pour l'amélioration des animaux domestiques est donc la production d'un nombre suffisant d'animaux en bonne santé.

### Absence d'empreinte

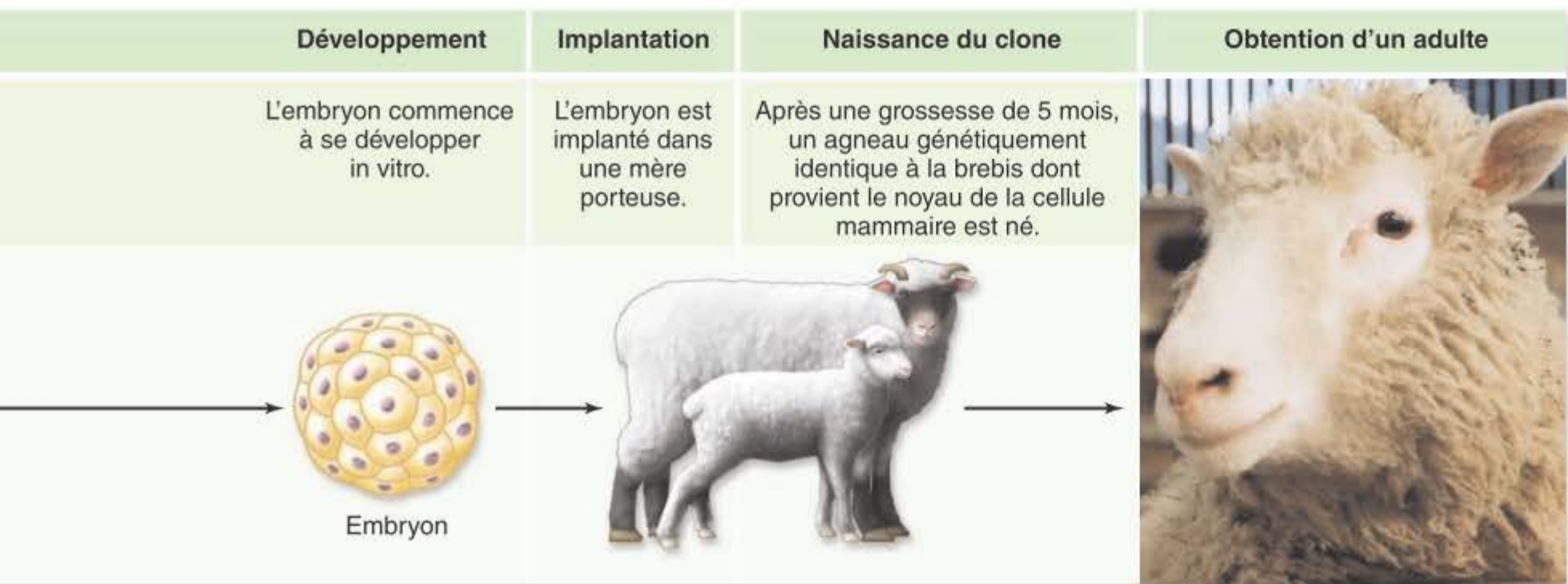
Ces problèmes proviennent d'un phénomène décrit au chapitre 13 : l'*empreinte génomique*. Les gènes impliqués s'expriment différemment selon l'origine parentale – suivant qu'ils ont été enclenchés dans l'ovule ou dans le spermatozoïde, et cette « disposition » persiste pendant le développement de l'adulte. Le développement normal des mammifères dépend d'une empreinte génomique précise.

Programmation et reprogrammation se succèdent au cours du développement normal. Lors du clonage, on essaye de les éviter et de ramener directement le noyau d'une cellule différenciée au stade zygote. Cela implique une modification du statut de la chromatine, et probablement aussi de l'organisation de la cellule. Tant que nous ne connaissons pas tout ce qu'implique ce processus, il sera difficile d'identifier les raisons précises de cette faible efficacité.

## Des facteurs définis sont utilisés pour reprogrammer le noyau

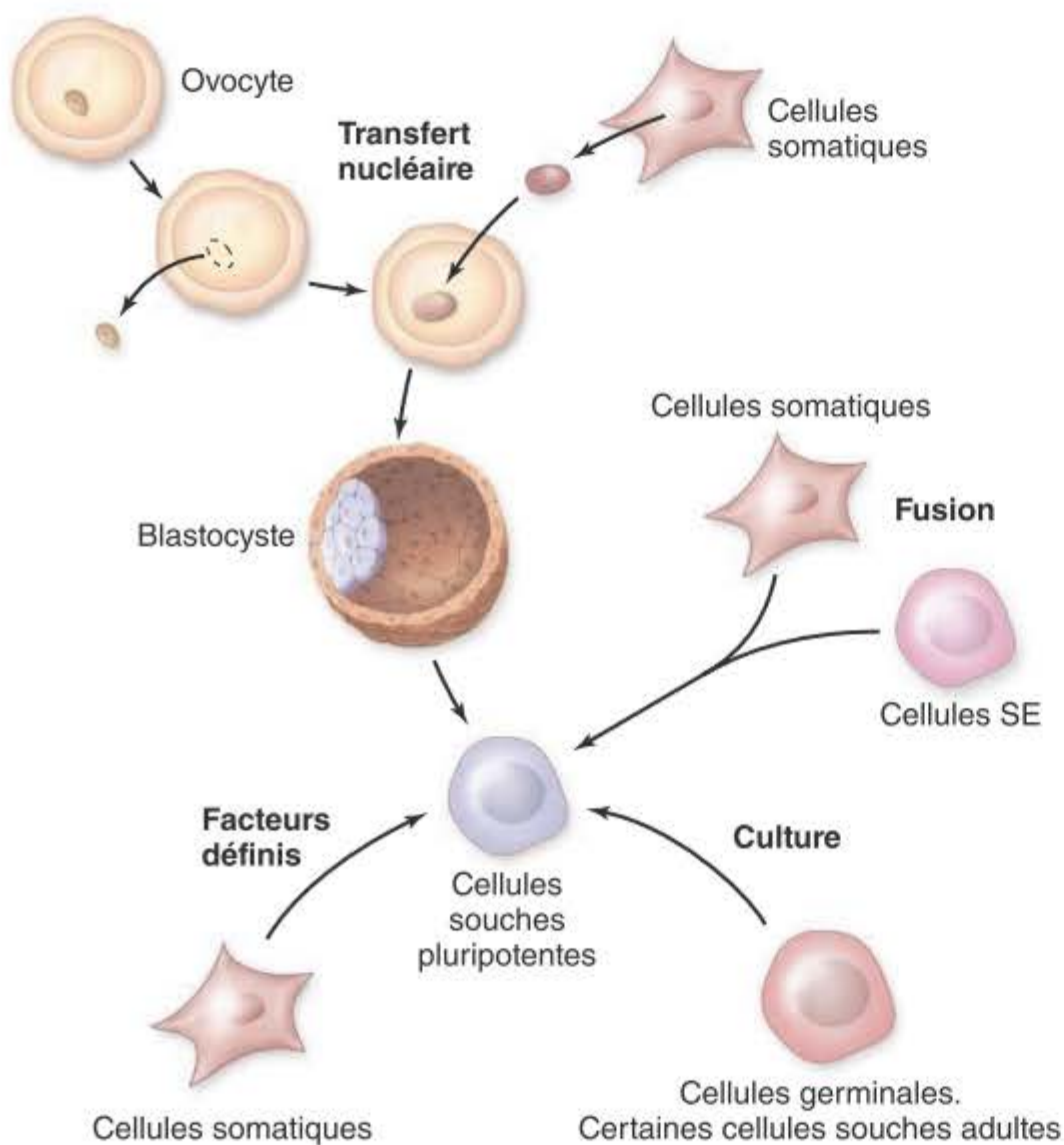
Suite à la découverte des cellules SE et au succès du clonage reproducteur des mammifères, beaucoup de recherches ont été entreprises pour trouver le moyen de reprogrammer les cellules adultes en cellules pluripotentes sans passer par les embryons (figure 19.10). Un moyen était la fusion d'une cellule SE et d'une cellule différenciée. Ces essais de fusion ont montré la possibilité de reprogrammer le noyau de la cellule différenciée par un contact avec le cytoplasme de la cellule SE. Les cellules obtenues étaient évidemment tétraploïdes (quatre exemplaires du génome), ce qui limite leur utilité expérimentale et pratique. Une autre voie de recherche a montré que les premières cellules germinales mises en culture pendant une période prolongée peuvent devenir capables de fonctionner comme les cellules SE. On a aussi signalé que certaines cellules souches adultes devenaient pluripotentes après une culture prolongée.

Toutes ces voies de recherche ont montré la possibilité de reprogrammer des noyaux somatiques. Les recherches entreprises pour caractériser la pluripotence ont identifié une série de facteurs de transcription actifs dans les cellules SE. En 2006, Shinya Yamanaka et ses collègues ont montré que l'introduction des gènes codant quatre facteurs de transcription – Oct4, Sox2, c-Myc et Klf4 – pouvaient reprogrammer les cellules de fibroblastes en culture. Après avoir introduit les gènes de ces facteurs de transcription, on a sélectionné les cellules exprimant un gène cible



contrôlé par Oct4 et Sox2, et ces cellules étaient pluripotentes. On les a désignées comme cellules souches pluripotentes induites.

Le protocole a été raffiné par sélection d'un autre gène cible que l'on savait essentiel pour la pluripotence : *Nanog*. Ces cellules souches



**Figure 19.10 Comment reprogrammer les noyaux de cellules adultes.** Il existe plusieurs moyens de reprogrammer en cellules pluripotentes des cellules prélevées sur des organismes adultes. On peut transplanter les noyaux de cellules somatiques dans des ovocytes comme pour le clonage. On peut fusionner les cellules somatiques à des cellules SE obtenues par divers autres moyens. Les cellules germinales et certaines cellules souches adultes paraissent reprogrammées après une culture prolongée. Des recherches récentes ont montré la possibilité de reprogrammer des cellules somatiques en culture par l'introduction de facteurs spécifiques.

induites exprimant *Nanog* paraissent semblables aux cellules SE en ce qui concerne les possibilités de développement et l'expression des gènes. Il semble que la structure de leur chromatine, et donc leur statut épigénétique, ne sont pas nécessairement les mêmes que ceux des cellules SE.

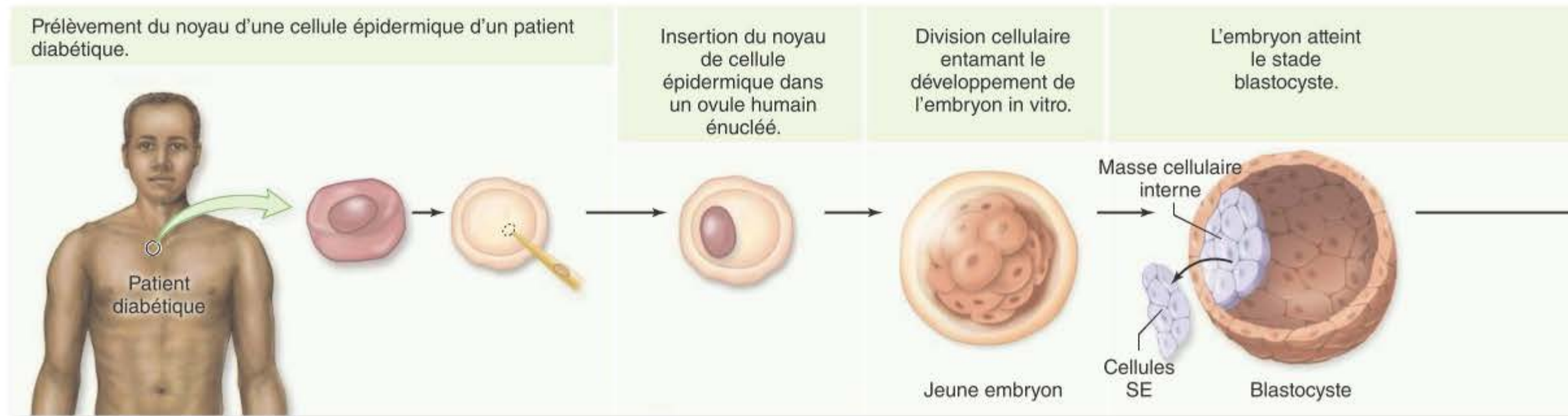
Nous pouvons nous demander ce que nous apportent ces recherches à propos de la pluripotence et de la différenciation. Il est évident que la reprogrammation est un processus qui comprend de nombreuses étapes. En culture, une partie des cellules seulement franchissent chaque étape, ce qui explique l'inefficacité de l'ensemble du processus. Quand on part d'un fibroblaste, les cellules changent d'abord de forme et deviennent plus sphériques, et elles se divisent plus rapidement. Elles inversent ensuite partiellement leur programme de développement pour ressembler plutôt à des cellules épithéliales : c'est une transition de mésenchyme en cellule épithéliale.

Finalement, l'expression se stabilise grâce aux facteurs de régulation de base de la pluripotence Oct4, Sox2 et Nanog. La pluripotence persiste grâce à une combinaison de facteurs de transcription et à la structure de la chromatine (modifications épigénétiques). Au niveau du génome entier, l'analyse des marqueurs épigénétiques a révélé des changements de la méthylation et de l'acétylation des histones, mais la signification des différentes modifications n'est pas claire. En outre, les cellules souches induites ne paraissent pas avoir la même signature épigénétique que les cellules SE. On ne voit pas encore ce que cela peut signifier.

On utilise aujourd'hui cette technologie pour construire des cellules SE de patients atteints d'une maladie héréditaire, l'atrophie musculaire spinale. En culture, ces cellules SE se différencieront en neurones moteurs avec le phénotype souhaité pour la maladie. La possibilité d'obtenir des cellules souches correspondant à une maladie constituera un progrès immense pour les chercheurs qui étudient ces maladies. On pourra ainsi créer des systèmes in vitro pour étudier directement les cellules affectées par des maladies génétiques et pour choisir les thérapies possibles.

## Les cellules pluripotentes pourraient être utilisées pour remplacer des tissus

Les cellules pluripotentes elles-mêmes peuvent avoir des applications thérapeutiques. Un moyen de résoudre le problème du rejet des greffes,



par exemple lors de greffes de peau en cas de brûlures graves, est la production de lignées de cellules souches embryonnaires spécifiques du patient. La première méthode appliquée pour y arriver est le **clonage thérapeutique** : elle est basée sur la création d'un embryon par la technique de transfert de noyaux de cellules somatiques appliquée pour Dolly. Le noyau d'une cellule de peau est prélevé et inséré dans un ovule préalablement énucléé. Avec son noyau de cellule de peau, l'ovule donne un blastocyste. Cet embryon artificiel est ensuite utilisé pour produire des cellules SE qui sont transférées au tissu atteint (figure 19.11).

Le clonage thérapeutique répond à un problème essentiel qui doit être résolu avant de pouvoir utiliser des cellules souches pour réparer les tissus endommagés par une crise cardiaque, une blessure aux nerfs, le diabète ou la maladie de Parkinson – le problème de la réponse immunitaire. Étant clonées à partir de tissus de l'individu lui-même, les cellules souches échappent au contrôle du système immunitaire et sont facilement adoptées par l'organisme. Un essai clinique en cours au Japon utilise des cellules souches induites pour le traitement de la cécité. Les patients sont atteints de la dégénérescence maculaire liée à l'âge, cause la plus fréquente de cécité chez les personnes âgées. C'est le premier essai clinique appliquant cette technologie, et les premiers résultats suggèrent une certaine amélioration de la vision. Nous sommes encore loin de l'ingénierie des tissus, mais il s'agit d'un premier pas dans cette direction.

#### Questions d'apprentissage 19.4

Le clonage est pratiqué depuis longtemps chez les plantes. Chez les animaux, les cellules des jeunes embryons sont également totipotentes, mais les tentatives de clonage à partir de noyaux adultes ont donné des résultats mitigés. Pour devenir totipotent, le noyau d'une cellule différenciée doit être reprogrammé. Cela semble nécessaire au moins en partie à cause de l'empreinte génomique. On peut reprogrammer les noyaux par fusion avec une cellule souche embryonnaire, qui donne une cellule tétraploïde, ou en introduisant quatre facteurs de transcription importants. On a montré que la reprogrammation est possible par un clonage reproducteur appliquant le transfert d'un noyau de cellule somatique. Le but du clonage thérapeutique est la production d'un tissu de remplacement à partir de cellules du patient lui-même.

- Quelles sont les modifications nécessaires pour obtenir une cellule totipotente à partir d'un noyau différencié ?

## 19.5 Formation du plan de l'organisme

### Objectifs

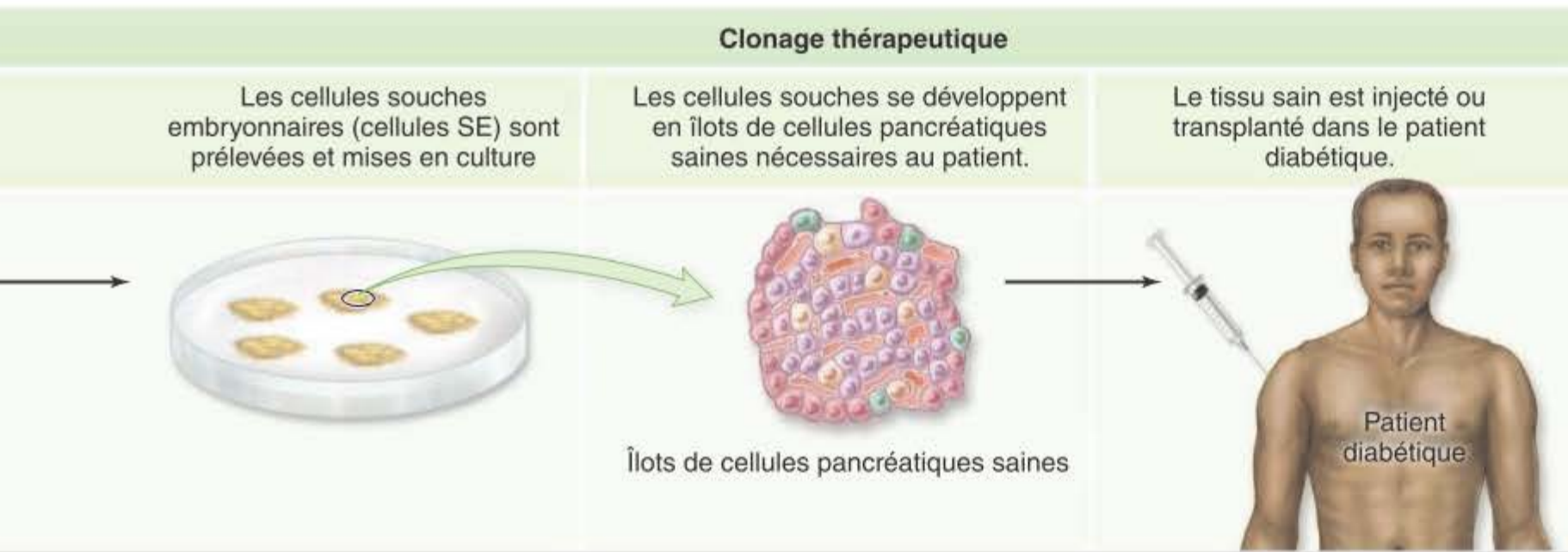
1. Décrire la formation de l'axe A/P de la drosophile.
2. Décrire la formation de l'axe D/V de la drosophile.
3. Expliquer l'importance, pour le développement, des gènes possédant l'homéoboîte.

Pour aboutir aux types cellulaires appropriés lors de leur différenciation, les cellules des organismes pluricellulaires doivent être informées sur leur position relative dans l'organisme. Tous les organismes pluricellulaires semblent utiliser une information de position pour déterminer le schéma de base de leurs différentes parties, et donc l'architecture de tout l'organisme adulte. Cette information de position entraîne ensuite des modifications intrinsèques de l'activité des gènes et les cellules finissent par adopter une orientation compatible avec leur localisation.

La formation du plan est un mécanisme progressif. Dans ses stades ultimes, elle peut concerner la morphogenèse des organes (on en parlera plus tard) mais, au début du développement, elle détermine le plan de base de l'organisme, l'axe antéro-postérieur (A/P, de la tête à la queue) et l'axe dorsoventral (D/V). On peut donc considérer la formation du plan de base comme le processus qui part d'une cellule à symétrie radiaire et lui impose deux axes perpendiculaires, l'organisme acquérant ainsi une symétrie bilatérale. Les biologistes du développement parlent de **polarité** pour désigner l'apparition des différences axiales dans les structures en développement.

La drosophile, *Drosophila melanogaster*, est l'animal le mieux connu en ce qui concerne le contrôle génétique de l'établissement du plan de base. Nous nous concentrerons ici sur le système drosophile et plus tard, au chapitre 53, nous examinerons la formation des axes chez les vertébrés dans le cadre de leur développement global.

Une expression génique hiérarchisée débutant par l'expression de gènes maternels contrôle le développement de la drosophile. Pour comprendre les détails de ces interactions géniques, nous avons d'abord besoin de revoir brièvement les stades du développement de la drosophile.



**Figure 19.11 Comment utiliser des embryons humains pour le clonage thérapeutique.** Dans le clonage thérapeutique, après un clonage reproducteur initial, l'embryon est détruit et ses cellules souches sont extraites. Elles sont cultivées et utilisées pour remplacer le tissu malade de l'individu dont provient l'ADN. Ce n'est utile que si la maladie en question n'est pas génétique, puisque les cellules souches sont génétiquement identiques au patient.

## L'embryogenèse de la drosophile donne une larve formée de segments

La drosophile et beaucoup d'autres insectes produisent deux formes différentes d'organismes au cours de leur développement : la première est une machine tubulaire à manger, la **larve**, et la seconde est une machine volante sexuée dotée de pattes et d'ailes. Le passage d'une forme à l'autre, la **métamorphose**, implique une modification radicale du développement (figure 19.12). Dans ce chapitre, nous nous concentrerons sur le passage de l'œuf fécondé à la larve, l'*embryogenèse*.

### Participation maternelle avant la fécondation

La préparation du développement d'un insecte, comme la drosophile, débute avant la fécondation, par la construction de l'ovocyte. Des *cellules nourricières* spécialisées participant à sa croissance synthétisent des ARNm spécifiques, puis les transfèrent à l'ovocyte pendant l'ovogenèse (figure 19.12a).

Après la fécondation, les ARNm maternels sont traduits en protéines, facteurs de transcription ou régulateurs de la traduction, qui vont activer de façon séquentielle des gènes du zygote ou la traduction d'ARNm stockés dans l'ovocyte pendant l'ovogenèse. Ce sont donc les gènes de la mère, plutôt que ceux du zygote, qui déterminent le cours initial du développement de la drosophile.

### Développement après la fécondation

Après la fécondation, 12 cycles de divisions nucléaires sans cytokinèse produisent environ 6000 noyaux réunis dans un cytoplasme commun. Tous les noyaux de ce **blastoderme syncytial** (figure 19.12b) peuvent communiquer librement entre eux, mais les noyaux qui se trouvent dans des secteurs différents de l'œuf sont au contact de produits maternels différents.

Quand les noyaux se sont répartis régulièrement à la surface du blastoderme, des membranes se développent entre eux et forment le **blastoderme cellulaire**. L'embryon se replie peu après et le tissu primaire se développe par un processus fondamentalement semblable à celui que l'on voit dans le développement des vertébrés. Dans les 24 heures suivant la fécondation, l'embryogenèse produit un organisme tubulaire segmenté qui va s'échapper des enveloppes protectrices de l'œuf : c'est la larve.

## Des gradients de morphogènes forment les axes de base de la drosophile

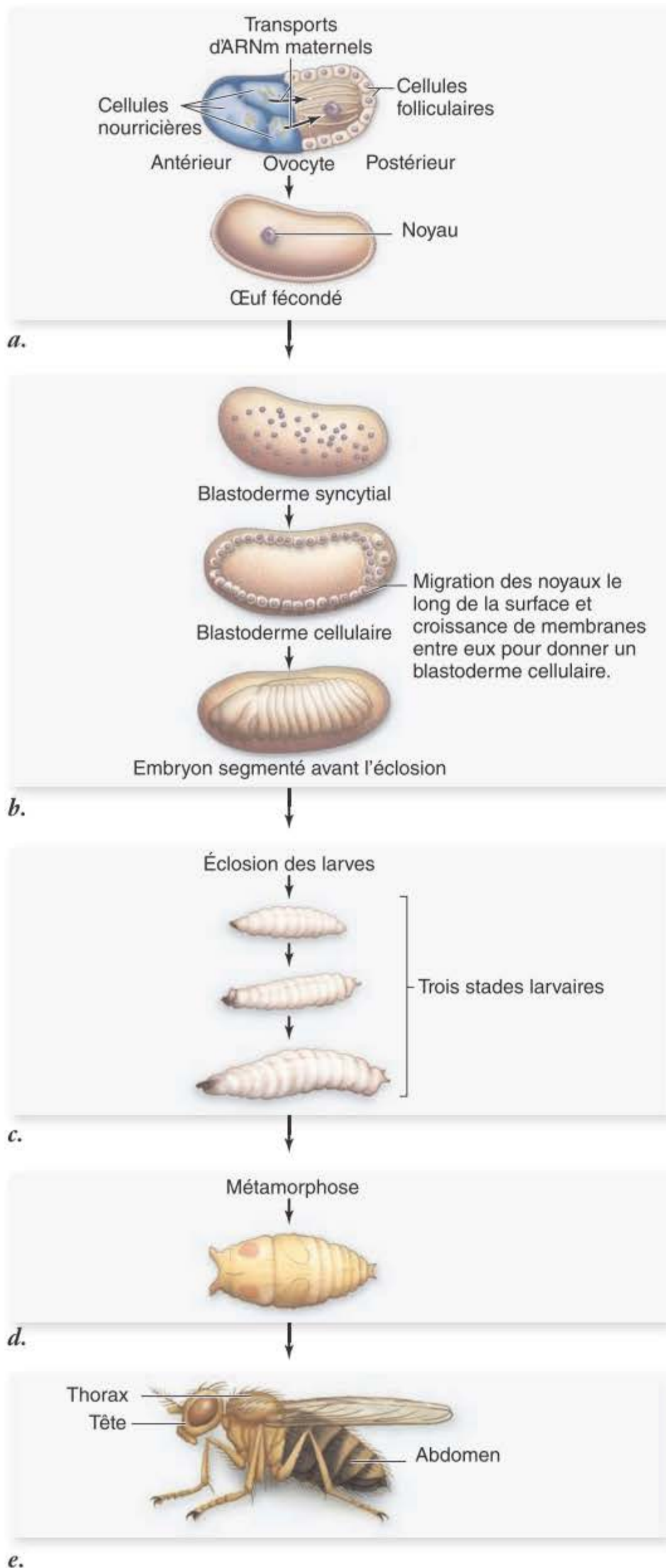
### L'axe antéro-postérieur

L'axe A/P est préfiguré dans l'ovocyte par l'adressage spécifique des ARNm *bicoid* et *nanos* dans deux domaines opposés de la cellule. Après la fécondation, ces ARNm vont être traduits et générer deux gradients opposés de protéines dans le cytoplasme du zygote. Un mécanisme particulier est à l'origine de ces gradients protéiques.

Au cours de l'ovogenèse, les cellules nourricières synthétisent des ARNm *bicoid* et *nanos* qui sont transportés vers l'ovocyte le long d'un réseau de microtubules qui traverse les ponts cytoplasmiques existant entre les cellules nourricières et l'ovocyte (figure 19.14a). Une fois dans l'ovocyte, ces ARNm sont transportés vers deux pôles opposés de la cellule. Ce transport différentiel provient du déplacement des deux ARNm par des protéines motrices différentes. L'ARNm *bicoid* se fixe ainsi dans le cytoplasme de l'extrémité de l'ovocyte la plus proche des cellules nourricières, et cette extrémité deviendra la partie antérieure de l'embryon. L'ARNm *nanos* se fixe à l'extrémité opposée de l'ovocyte, qui deviendra l'extrémité postérieure de l'embryon. À la fin de l'ovogenèse, les ARNm *bicoid* et *nanos* sont donc déjà en place pour fonctionner comme déterminants cytoplasmiques dans l'œuf fécondé (figure 19.14b).

Après la fécondation, ces ARNm fixés aux pôles du zygote sont traduits en protéines qui diffusent dans le cytoplasme et créent deux gradients protéiques opposés : la protéine Bicoid est plus abondante au pôle antérieur (figure 19.15a) et Nanos au pôle postérieur. Les gradients de concentration des molécules solubles peuvent déterminer le sort des cellules le long d'un axe, et les protéines qui fonctionnent ainsi, comme Bicoid et Nanos, sont des **morphogènes**. On peut constater l'importance de ces morphogènes chez les mutants où ils ne s'expriment plus : la perte de Bicoid donne un embryon avec seulement les parties postérieures, et l'absence de la protéine Nanos donne un embryon avec seulement les parties antérieures.

Les protéines Bicoid et Nanos contrôlent la traduction de deux autres ARNm maternels, *hunchback* et *caudal*, qui codent des facteurs de transcription. **Hunchback** active les gènes nécessaires à la formation des structures antérieures et **Caudal** active ceux qui sont nécessaires au développement des structures postérieures (abdominales). Les ARNm



**Figure 19.12 Développement de la drosophile.** Les principales étapes du développement de *Drosophila melanogaster* sont (a) l'ovule, (b) le blastoderme syncytial et cellulaire, (c), les mues larvaires, (d) la puppe et la métamorphose et (e) l'adulte sexuellement mature.

*hunchback* et *caudal* sont uniformément répartis dans l'ovocyte (figure 19/15b) ; comment alors les protéines traduites à partir de ces ARNm se localisent-elles ?

La réponse est que la protéine Bicoid s'unit à l'ARNm *caudal* et empêche sa traduction. *Caudal* n'est donc traduit que dans les régions postérieures de l'ovule, d'où Bicoid est absent. De même, la protéine Nanos s'unit à l'ARNm *hunchback* et empêche sa traduction. De ce fait, *hunchback* n'est traduit que dans les régions antérieures de l'œuf (figure 19.15c). Peu après la fécondation, il existe donc quatre gradients de protéines dans l'embryon : des gradients antéro-postérieurs des protéines Bicoid et Hunchback et des gradients postéro-antérieurs des protéines Nanos et Caudal (figure 19.15c).

### L'axe dorsoventral

L'axe dorsoventral de la drosophile est contrôlé par le produit du gène *dorsal*. Ici aussi, le processus débute dans l'ovaire, quand les transcrits maternels de ce gène pénètrent dans l'ovocyte. Cependant, contrairement à *bicoid* et *nanos*, l'ARNm *dorsal* n'est pas réparti asymétriquement. *Dorsal* intervient par une série d'étapes.

D'abord, le noyau de l'ovocyte, situé d'un côté de la cellule, synthétise l'ARNm *gurken*. Cet ARNm s'accumule dans un croissant entre le noyau et la membrane de ce côté de l'ovocyte (figure 19.16a). Ce sera la face dorsale de l'embryon.

La protéine Gurken est une molécule de signalisation cellulaire soluble et, quand elle est traduite et libérée de l'ovocyte, elle s'unit aux récepteurs des membranes des cellules folliculaires qui l'entourent (figure 19.16b). Ces cellules se différencient ensuite en une structure dorsale. Pendant ce temps, il n'y a pas de libération du signal Gurken de l'autre côté de l'ovocyte, et les cellules folliculaires deviennent une structure ventrale de ce côté.

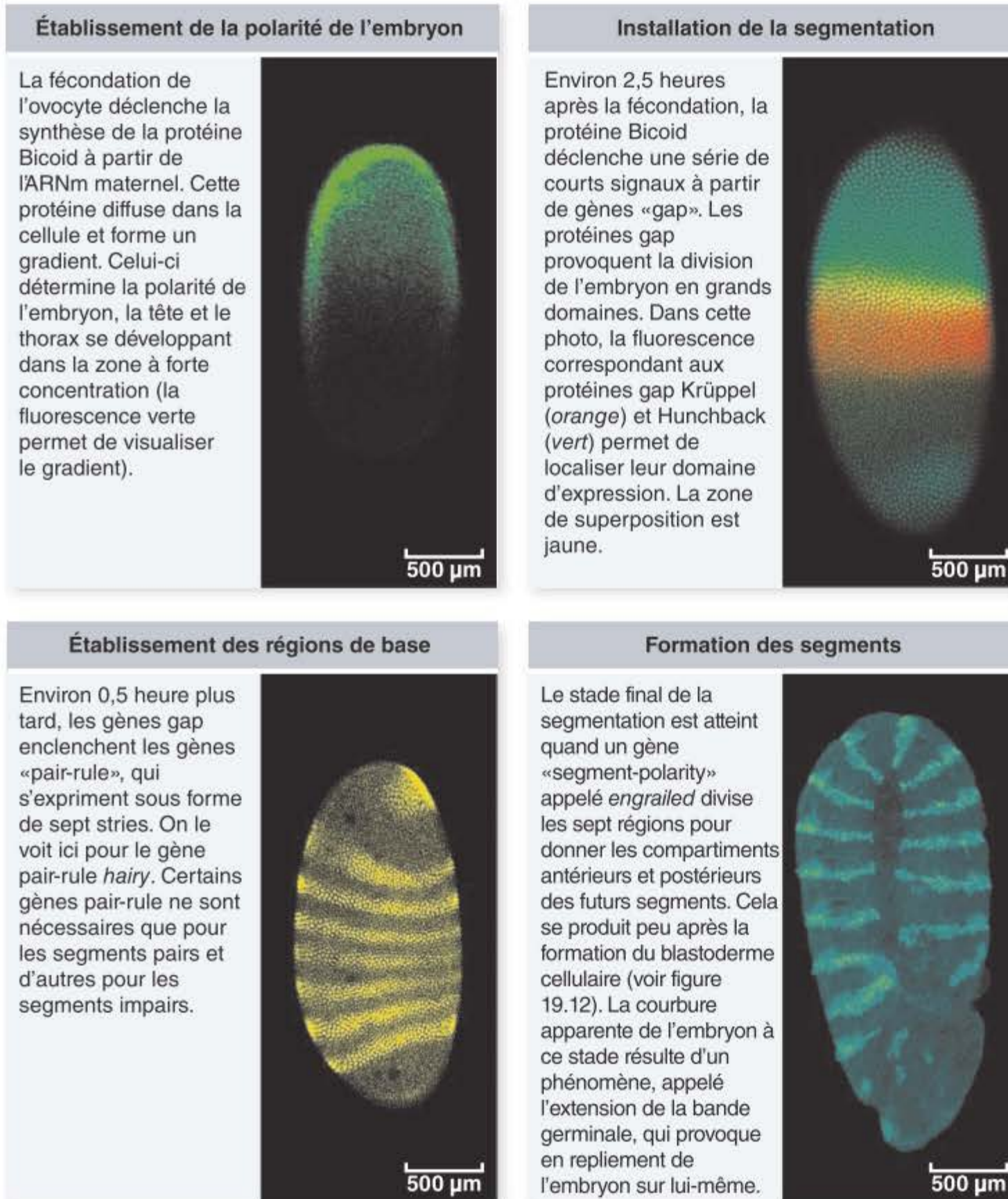
Après la fécondation, une molécule de signalisation est activée de façon différente sur la face ventrale de l'embryon en passant par une série complexe d'étapes. Cette molécule s'unit ensuite à un récepteur membranaire des cellules ventrales de l'embryon et y active une voie de transduction des signaux. L'activation de cette voie entraîne le transport sélectif de la protéine Dorsal (présente partout) vers les noyaux ventraux, formant un gradient le long de l'axe D/V. La concentration de la protéine Dorsal est la plus élevée dans les noyaux des cellules ventrales (figure 19.16c).

(Notez que le nom de beaucoup de gènes de la drosophile correspond au phénotype mutant provenant de la perte de la fonction de ce gène. La perte de la fonction *dorsal* donne des embryons sans structure ventrale.)

La protéine Dorsal est un facteur de transcription et, dès son entrée dans les noyaux, elle active les gènes nécessaires au développement correct des structures ventrales, et elle réprime en même temps les gènes spécifiques des structures dorsales. Finalement, le produit du gène *dorsal* contrôle donc le développement des structures ventrales.

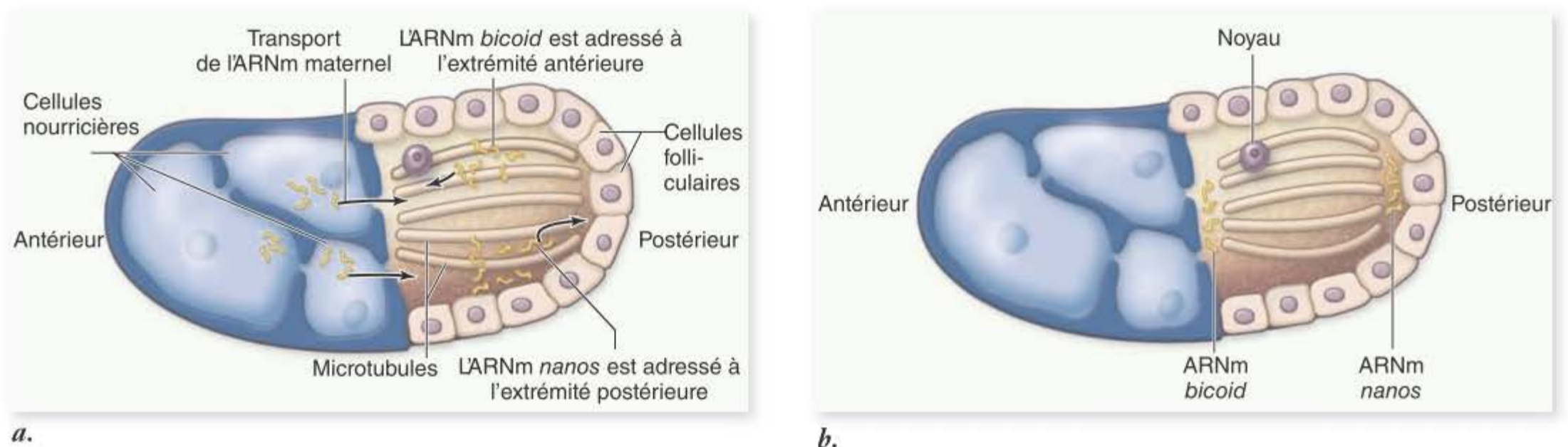
Malgré l'implication de mécanismes profondément différents, le facteur unificateur contrôlant la polarité A/P et D/V de la drosophile est le fait que *bicoid*, *nanos*, *gurken* et *dorsal* sont tous des gènes qui s'expriment chez la mère. Dans les deux cas, la polarité du futur embryon est donc définie dans l'ovocyte par une information provenant du génome maternel.

L'exposé qui précède est une simplification, mais le schéma est clair : la polarité est déterminée par des gradients de morphogènes dans l'embryon dépendant d'une information maternelle dans l'ovocyte. Ces

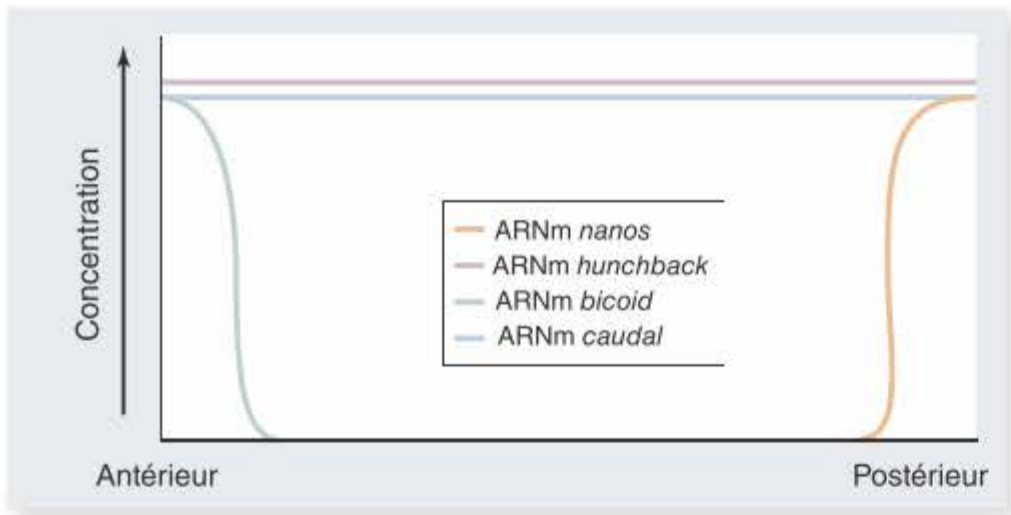


**Figure 19.13** Organisation du corps dans un jeune embryon de drosophile.

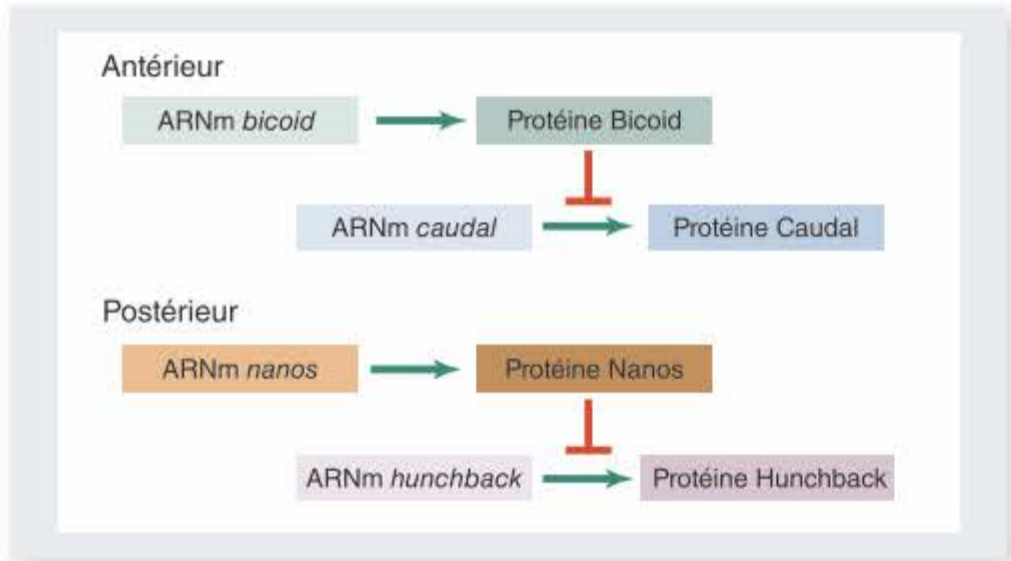
Dans ces images au microscope à fluorescence dues à la lauréate du prix Nobel 1995 Christiane Nüsslein-Volhard et de Sean Carroll, on voit un zygote de drosophile passer par les premiers stades de son développement, pendant lesquels apparaît la segmentation de l'embryon selon l'axe antéro-postérieur. Les protéines sont mises en évidence par immunofluorescence indirecte à l'aide d'anticorps fluorescents spécifiques.



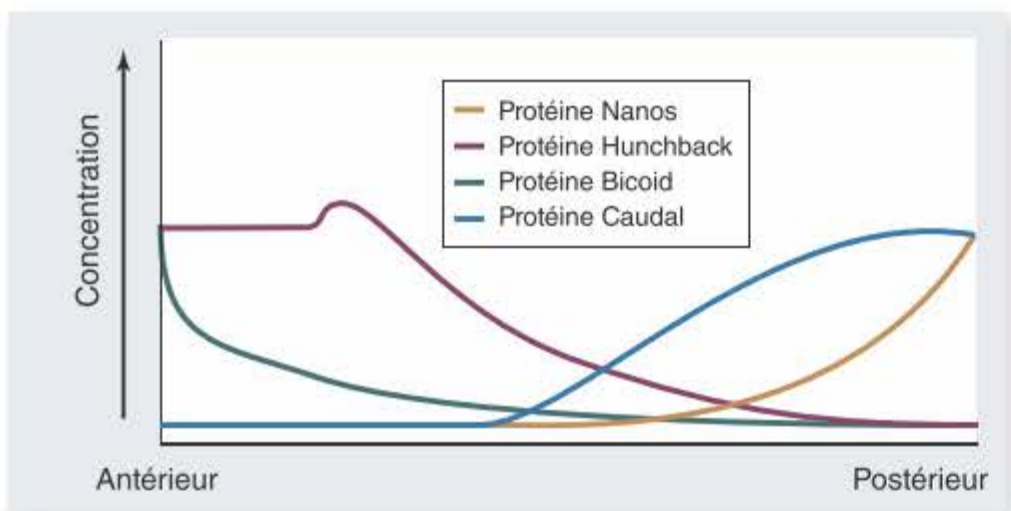
**Figure 19.14** Détermination de l'axe A/P dans les embryons de drosophile I. *a.* Dans l'ovaire, les cellules nourricières synthétisent l'ARNm maternel qui est transporté dans le cytoplasme de l'ovocyte. Des amas de microtubules dirigent la croissance et la maturation de l'ovocyte. Les protéines motrices se déplacent le long des microtubules, transportant des molécules dans les deux sens. Les ARNm *bicoid* sont transportés vers le pôle antérieur de l'ovocyte et les ARNm *nanos* vers son pôle postérieur. *b.* Ovocyte mature, montrant la localisation des ARNm *bicoid* au pôle antérieur et les ARNm *nanos* au pôle postérieur.



a. ARNm d'ovocyte



b. Après fécondation

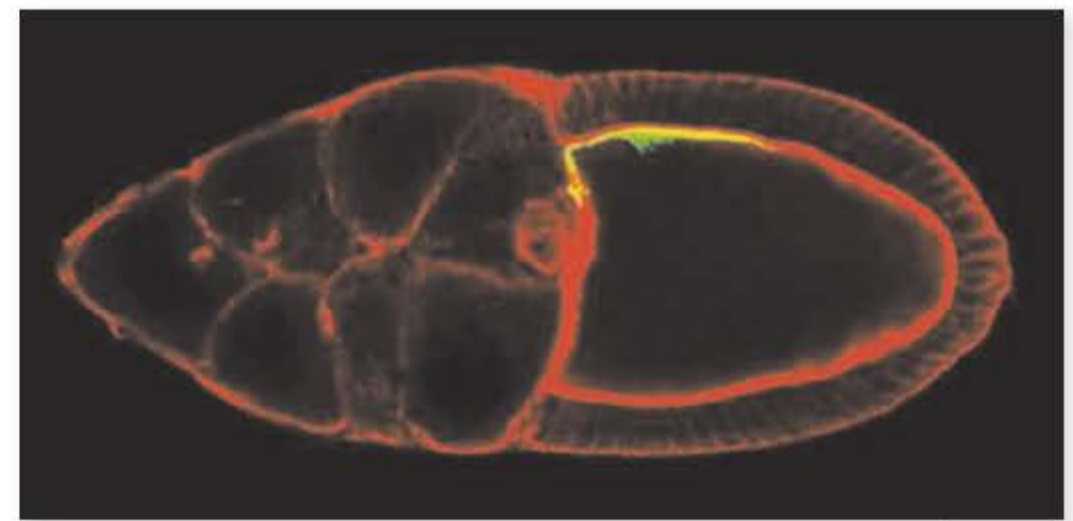


c. Protéines de l'embryon en début de division



a.

400 μm



b.

400 μm



c.

100 μm

**Figure 19.15 Détermination de l'axe A/P dans les ovocytes et les embryons de drosophile II.** a. Contrairement à *bicoid* et *nanos*, les ARNm *hunchback* et *caudal* sont uniformément répartis dans tout le cytoplasme de l'ovocyte. b. Après la fécondation, les ARNm *bicoid* et *nanos* sont traduits en protéines, formant des gradients opposés de chacune. Bicoid s'unit aux ARNm *hunchback* et empêche leur traduction (dans les régions postérieures de l'œuf). c. La traduction des ARNm *hunchback* dans les régions antérieures de l'œuf produit un gradient de Hunchback qui reflète le gradient de Bicoid. La traduction des ARNm *caudal* dans les régions postérieures de l'embryon génère un gradient de Caudal qui reflète celui de Nanos.

gradients entraînent ensuite l'expression des gènes zygotiques qui donneront effectivement la structure de l'embryon. Cette dépendance d'une hiérarchie de gènes de régulation est un thème unificateur pour tout le développement.

## Le plan de l'organisme repose sur une série d'activations de gènes

Revenons maintenant au processus de la formation du plan de la drosophile le long de l'axe A/P. Les structures sont déterminées par l'activa-

**Figure 19.16 Détermination de l'axe D/V dans les ovocytes et les embryons de drosophile.** a. L'ARNm *gurken* (colorant foncé) se concentre entre le noyau de l'ovocyte (non visible) et la face antérieure dorsale de l'ovocyte. b. Dans un ovocyte plus avancé, la protéine Gurken (colorant jaune) est sécrétée par la surface antérieure dorsale de l'ovocyte et forme un gradient le long de la face dorsale de l'ovule. Gurken s'unit ensuite aux récepteurs membranaires des cellules folliculaires voisines. La double coloration pour l'actine (rouge) montre les limites cellulaires de l'ovocyte, des cellules nourricières et des cellules folliculaires. c. Pour ces figures, on a coupé transversalement des embryons au stade du blastoderme cellulaire afin de mettre en évidence les noyaux des cellules périphériques des embryons. La protéine Dorsal (colorant foncé) est localisée dans les noyaux de la face ventrale du blastoderme dans un embryon de type sauvage (à gauche). Le mutant *dorsal* de droite ne formera pas de structures ventrales et il n'y a pas de Dorsal dans les noyaux ventraux de cet embryon.

tion successive de trois catégories de gènes de segmentation. Ces gènes dessinent le plan de l'organisme segmenté d'un insecte, composé de trois segments fusionnés pour la tête, trois segments thoraciques et huit segments abdominaux (voir figure 19.12e).

Pour commencer, la protéine Bicoid a une profonde influence sur l'organisation de l'embryon en activant la traduction de l'ARNm

*bunchback*. Puis elle active la transcription du gène zygotique *bunchback* produisant un des premiers ARNm synthétisés après la fécondation. *Hunchback* fait partie d'un groupe de neuf gènes, les **gènes gap**. Ces gènes définissent la subdivision initiale de l'embryon le long de l'axe A/P (figure 19.13).

Tous les gènes gap codent des facteurs de transcription qui, à leur tour, activent l'expression d'au moins huit **gènes pair-rule**. Ceux-ci produisent des protéines qui se répartissent selon l'axe A/P de l'embryon pour définir des domaines restreints d'expression. Par exemple, la protéine hairy codée par le gène *hairy* se répartit en sept bandes distinctes de cellules (voir figure 19.13). Ces bandes subdivisent les larges régions gap et déterminent les frontières divisant l'embryon en sept zones. La mutation de chaque gène gap modifie tous les autres segments de l'organisme.

Tous les gènes pair-rule codent aussi des facteurs de transcription qui, à leur tour, contrôlent l'expression de tous les autres et d'un groupe d'au moins neuf **gènes de polarité segmentaire**. Chacun de ces gènes s'exprime dans 14 bandes distinctes de cellules qui subdivisent les sept zones définies par les gènes pair-rule (voir figure 19.13). Le gène *engrailed*, par exemple, divise chacune des sept zones définies par *hairy* en un compartiment antérieur et un postérieur. Les gènes de polarité segmentaire codent des protéines qui fonctionnent dans les voies de signalisation entre cellules. Ils interviennent donc dans des événements inducteurs – survenant après la division du blastoderme syncytial en cellules – pour fixer la différenciation antérieure ou postérieure des cellules de chaque segment.

En résumé, dans les 3 heures qui suivent la fécondation, l'activité d'une succession bien orchestrée de gènes de segmentation transforme les larges gradients du jeune embryon en une structure périodique, segmentée, avec une polarité A/P. L'activation des gènes de segmentation repose sur la libre diffusion de morphogènes codés par des ARNm de la mère, uniquement possible dans le blastoderme syncytial du jeune embryon de la drosophile.

## Les gènes homéotiques déterminent l'identité des segments

Après l'établissement du plan de base, l'étape suivante est la définition de l'identité des segments de l'embryon. Une catégorie très intéressante de mutants de drosophile a été le point de départ permettant de comprendre l'origine de l'identité des segments.

**Figure 19.17** Mutations de gènes homéotiques. Trois mutations distinctes du complexe bithorax entraînent, chez la drosophile, le développement d'un segment thoracique supplémentaire avec ses ailes.



Chez ces mutants, un segment particulier semble avoir changé d'identité – c'est-à-dire que ses caractéristiques sont celles d'un autre segment. Chez les insectes de type sauvage, chacun des trois segments thoraciques porte une paire de pattes, mais seul le second a des ailes. Les mutations du gène *Ultrabithorax* entraînent la formation d'une paire d'ailes supplémentaires, comme si l'insecte avait deux seconds segments thoraciques (figure 19.17). Plus bizarres encore sont les mutations d'*Antennapedia*, qui entraînent le développement de pattes sur la tête, à la place des antennes !

Les mutations de ces gènes entraînent donc l'apparition d'organes parfaitement normaux à des endroits aberrants. On parle de mutants *homéotiques* parce que la partie transformée du corps paraît semblable (homéotique) à une autre. Les gènes où apparaissent ces mutants sont des **gènes homéotiques**.

### Les complexes de gènes homéotiques

Au début des années 1950, le généticien et lauréat du prix Nobel Edward Lewis découvrit que plusieurs gènes homéotiques, comme *Ultrabithorax*, étaient groupés sur le troisième chromosome de la drosophile, formant un groupe compact, le **complexe bithorax**. Toutes les mutations de ces gènes affectent les segments thoraciques et abdominaux de l'organisme, et Lewis en conclut que les gènes de ce complexe contrôlent le développement de la moitié postérieure du thorax et de tout l'abdomen.

Le plus intéressant, c'est que l'ordre des gènes dans le complexe bithorax reflète l'ordre des parties du corps qu'ils contrôlent, comme si les gènes étaient activés en série. Les premiers gènes du complexe déclenchent le développement du thorax, ceux du milieu contrôlent la partie antérieure de l'abdomen et les derniers affectent la pointe postérieure de l'abdomen.

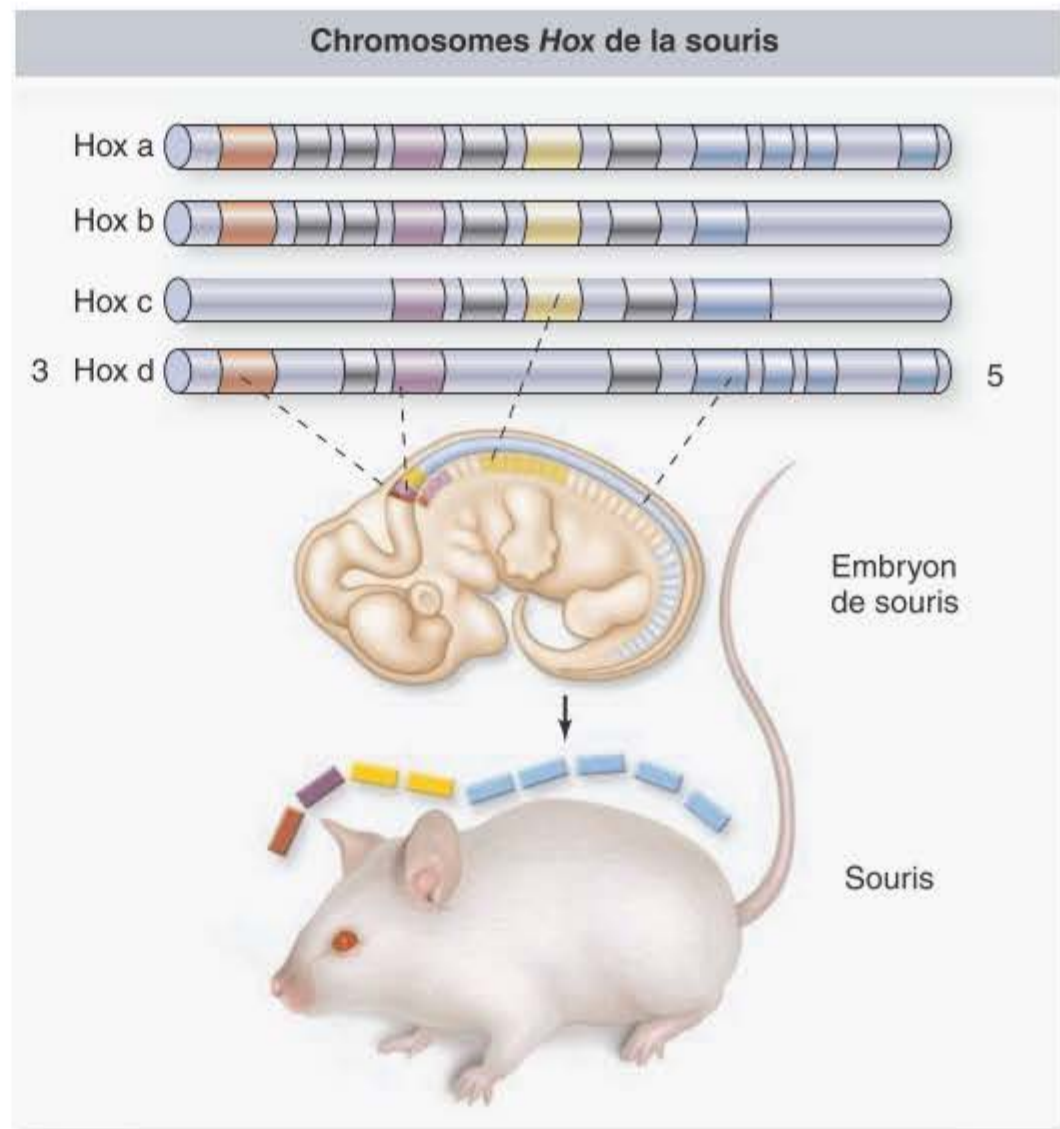
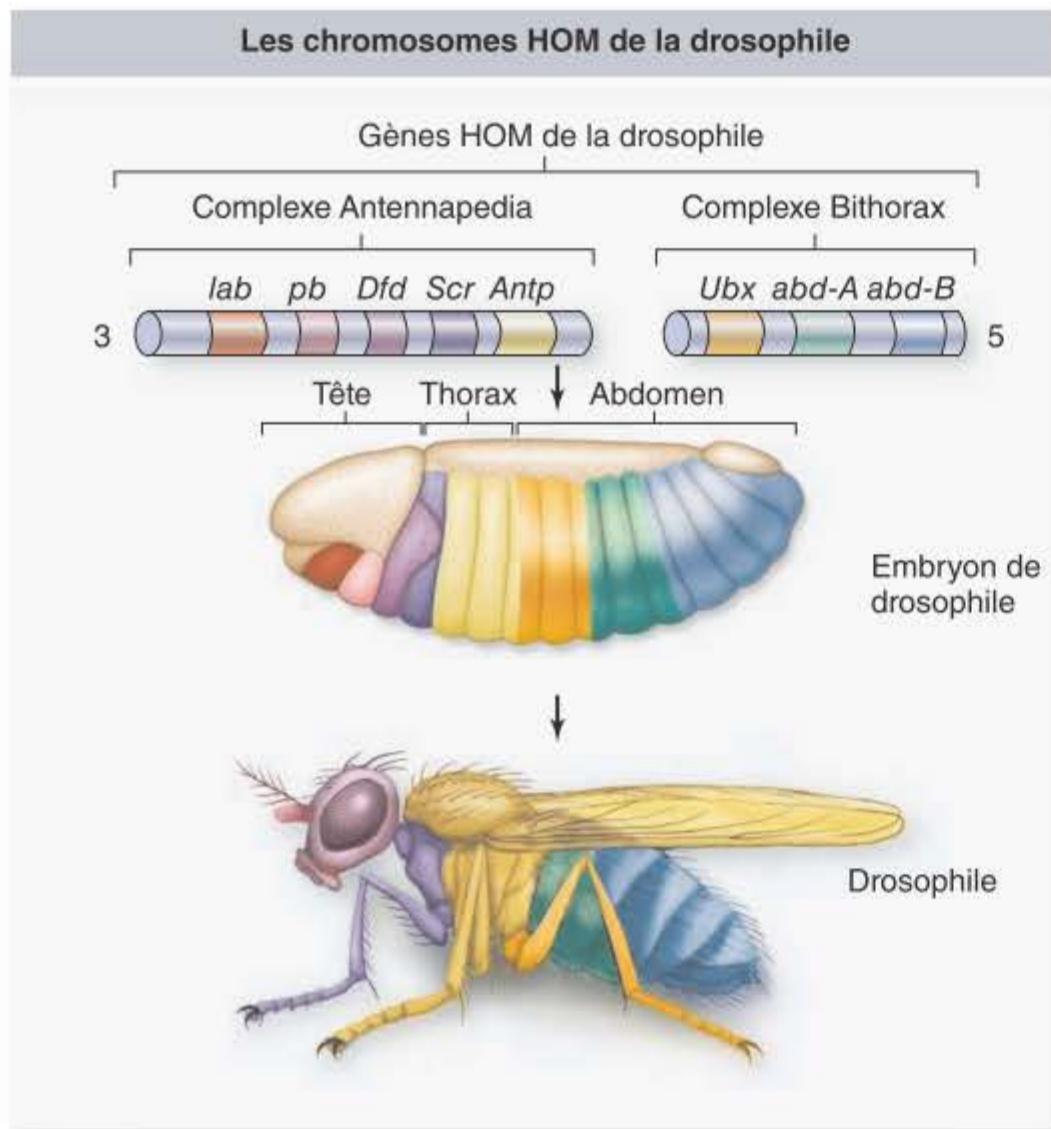
Un second groupe de gènes homéotiques, le **complexe Antennapedia**, fut découvert en 1980 par Thomas Kaufmann. Ce complexe contrôle l'extrémité antérieure de l'insecte, et l'ordre de ses gènes correspond également à l'ordre des segments contrôlés (figure 19.18a).

### L'homéoboîte

On a découvert une relation intéressante à la suite du clonage et du séquençage des gènes des complexes bithorax et Antennapedia. Tous ces gènes possèdent une séquence conservée de 180 nucléotides qui code un domaine de liaison à l'ADN de 60 acides aminés. On a appelé ce domaine *homéodomaine*, parce qu'on le trouve dans tous les gènes homéotiques, et

l'ADN qui le code est l'homéoboîte. Le terme **gène Hox** s'applique donc maintenant à un gène qui contient l'homéoboîte et détermine l'identité d'une partie du corps. Ces gènes fonctionnent comme facteurs de transcription qui s'unissent à l'ADN par leur domaine homéoboîte.

Il est clair que l'homéoboîte reconnaît les portions du génome intervenant dans la détermination du plan de l'organisme. Les recherches actuelles tentent de voir comment les gènes *Hox* y arrivent. Les scientifiques pensent que les cibles finales de ces gènes doivent être les gènes qui contrôlent le comportement des cellules associées à la morphogenèse des organes.



**Figure 19.18** Comparaison du groupe de gènes homéotiques chez la mouche du vinaigre, *Drosophila melanogaster*, et la souris, *Mus musculus*. *a.* Les gènes homéotiques de drosophile. Désignés comme complexe génique homéotique, ou complexe HOM, ces gènes sont réunis en deux groupes, les complexes Antennapedia (antérieur) et bithorax (postérieur). *b.* Les gènes HOM de la drosophile et les gènes *Hox* de la souris sont semblables et contrôlent le développement des différentes parties du corps chez les deux animaux. Ces gènes sont situés sur le même chromosome de l'insecte et sur quatre chromosomes différents des mammifères. Sur cette figure, les gènes sont colorés comme les parties du corps où ils s'expriment le long de l'axe A/P. Notez que l'ordre des gènes sur les chromosomes correspond à leur expression dans l'embryon et dans les structures de l'insecte adulte.

## Évolution des gènes incluant l'homéoboîte

Beaucoup de travaux ont été consacrés à l'analyse des groupes de gènes *Hox* chez d'autres organismes. Ces travaux ont abouti à une représentation assez cohérente de l'évolution des gènes homéotiques.

Il est aujourd'hui évident que les complexes bithorax et Antennapedia de la drosophile représentent deux parties d'un même groupe de gènes. Il existe quatre exemplaires des groupes de gènes *Hox* chez les vertébrés. Comme pour la drosophile, les domaines où s'expriment les gènes *Hox* sont en relation avec l'ordre des gènes sur le chromosome (figure 19.18*b*). L'existence de quatre groupes *Hox* chez les vertébrés est considérée par beaucoup comme la preuve de deux duplications de l'ensemble du génome dans la lignée des vertébrés.

Cette conclusion soulève le problème de l'époque où le premier groupe est apparu. Pour répondre à cette question, les chercheurs se sont tournés vers des organismes plus primitifs, comme *Amphioxus* (qui s'appelle aujourd'hui *Branchiostoma*), un cordé lancéolé (voir chapitre 35). La découverte d'un seul exemplaire des gènes *Hox* chez *Amphioxus* implique effectivement l'existence de deux duplications dans la lignée des vertébrés, au moins pour le groupe *Hox*. Étant donné qu'il n'y a qu'un seul groupe *Hox* chez les arthropodes, cela signifie que l'ancêtre commun de tous les organismes à symétrie bilatérale possédait également un seul groupe *Hox*.

L'étape suivante est logiquement la recherche d'animaux encore plus primitifs : les cnidaires à symétrie radiaire comme *Hydra* (voir cha-

pitre 34). Jusqu'à présent, on a trouvé les gènes *Hox* dans plusieurs espèces de cnidaires, et les analyses récentes de séquences font penser que les gènes *Hox* des cnidaires sont aussi disposés en groupes. L'apparition du complexe *Hox* ancestral a donc probablement précédé la séparation des symétries radiaire et bilatérale au cours de l'évolution des animaux.

## Le plan de base des plantes est aussi sous contrôle génétique

La séparation évolutive entre les lignées cellulaires végétales et animales remonte à quelque 1,6 milliard d'années, avant l'apparition d'organismes pluricellulaires à structure définie. Cela signifie que les formes pluricellulaires ont évolué indépendamment chez les plantes et les animaux. À cause de l'activité des méristèmes, de nouveaux modules peuvent s'ajouter aux plantes au cours de leur vie. En outre, les fleurs et les racines ont une symétrie radiaire, contrairement à la symétrie bilatérale de la plupart des animaux. Nous devons donc nous attendre à des différences fondamentales dans le contrôle génétique de l'organisation des plantes et des animaux.

Les plantes ont des gènes contenant l'homéoboîte, mais ils ne sont pas organisés en complexes de gènes *Hox* semblables à ceux qui déterminent l'identité des régions dans les structures en développement des animaux. Chez les plantes, la principale famille de gènes homéotiques paraît être celle des gènes *MADS-box*.

Les gènes *MADS*-box constituent une famille de régulateurs de la transcription présente dans la plupart des organismes eucaryotes, plantes, animaux et champignons. La *MADS*-box est un domaine conservé d'union à l'ADN et de dimérisation, dont le nom rappelle les cinq premiers gènes découverts avec ce domaine. On ne trouve que quelques gènes *MADS*-box chez les animaux, où ils participent entre autres au contrôle de la prolifération des cellules et de l'expression génique spécifique des tissus dans les cellules musculaires postmitotiques. Ils ne semblent pas intervenir dans la structure des embryons animaux.

Le nombre et la diversité des fonctions des gènes *MADS*-box ont par contre considérablement augmenté au cours de l'évolution des plantes terrestres, et il y en a plus de 100 dans le génome d'*Arabidopsis*. Chez les angiospermes, les gènes *MADS*-box dominent le contrôle du développement en régulant des processus tels que la transition du stade végétatif au reproducteur, le développement des racines et l'identité des organes floraux.

Bien que différents des gènes des complexes *Hox* animaux, les facteurs de transcription végétaux incluant l'homéodomaine ont des fonctions importantes dans le développement. Un exemple est la famille des gènes *knottedlike homeobox (knox)*, régulateurs importants du développement des méristèmes apicaux des spermatophytes comme des cryptogames. Les mutations affectant l'expression des gènes *knox* entraînent des modifications de la forme des feuilles et des pétales, ce qui suggère un rôle important de ces gènes pour la forme des feuilles.

### Questions d'apprentissage 19.5

La détermination du plan de l'organisme animal implique l'expression coordonnée de gènes dont l'expression est hiérarchisée. Chez la drosophile, des gradients de morphogènes spécifient les axes A/P et D/V, puis aboutissent à une activation successive de gènes de segmentation. Les gradients des protéines Bicoid et Nanos déterminent l'axe A/P. La protéine Dorsal détermine l'axe D/V, mais l'activation doit passer par une série d'étapes débutant avec la protéine de l'ovocyte Gurken. Les gènes homéotiques sont à l'origine de l'identité des segments. Ces gènes, qui contiennent une séquence homéodomaine d'union à l'ADN, sont appelés gènes *Hox* (pour *homéoboîte*) ; ils se répartissent en groupes sur les chromosomes. Les plantes utilisent un autre ensemble de gènes contrôlant le développement, les gènes *MADS*-box.

- Pourquoi vous attendriez-vous à ce que les gènes homéotiques soient conservés au cours de l'évolution des espèces ?

## 19.6 La morphogenèse

### Objectifs

1. Discuter l'importance des changements de forme des cellules et leur migration au cours du développement.
2. Expliquer comment la mort cellulaire peut contribuer à la morphogenèse.
3. Décrire le rôle de la matrice cellulaire dans la migration des cellules.

Au terme de la segmentation, la morphologie de l'embryon de drosophile est encore relativement simple : quelques milliers de cellules en apparence identiques, formant une seule assise autour d'une région centrale jaune, le vitellus. L'étape suivante du développement embryonnaire est la morphogenèse – la réalisation d'une forme et d'une structure ordonnées.

La morphogenèse est le résultat de modifications de la structure et du fonctionnement des cellules. Chez les animaux, elle repose sur la régulation des processus suivants :

- le nombre, le timing et l'orientation des divisions cellulaires,
- la croissance et l'expansion des cellules,
- les modifications de la forme des cellules,
- la migration des cellules et
- la mort cellulaire.

Les cellules végétales et animales sont fondamentalement différentes : les cellules animales ont une surface souple et peuvent se déplacer, mais les cellules végétales sont immobiles et enfermées dans des parois cellulodiques rigides. La position de toutes les cellules végétales est fixée dès l'origine. Les cellules animales migrent donc beaucoup au cours du développement, tandis que les plantes utilisent les quatre autres mécanismes, mais ne disposent pas de la migration cellulaire. Nous envisagerons ici les transformations morphogénétiques chez les animaux et la morphogenèse des plantes serait précisée au chapitre 41.

### Pendant le développement, la division cellulaire peut aboutir à une cytokinèse inégale

L'orientation du fuseau mitotique détermine le plan de la division cellulaire dans les cellules eucaryotes. L'intervention coordonnée des microtubules et de leurs protéines motrices détermine la position du fuseau mitotique au sein de la cellule (voir chapitre 10). Si le fuseau se trouve au centre de la cellule en division, on obtiendra deux cellules de même taille. Si le fuseau est excentré, une cellule fille sera plus grande et l'autre plus petite.

La grande diversité des types de segmentation dans les embryons animaux dépend de la localisation du fuseau. Très souvent, le sort d'une cellule est déterminé par sa localisation dans l'embryon pendant la segmentation. Par exemple, dans les embryons de mammifères avant l'implantation, les cellules externes se différencient habituellement en cellules du trophoblaste, qui formeront plus tard les structures extra-embryonnaires (comme une partie du placenta). Par contre, l'embryon proprement dit dérive de la masse cellulaire interne.

### Les cellules changent de forme et de taille pendant la morphogenèse

Chez les animaux, la morphogenèse s'accompagne souvent de profonds changements de la taille et de la forme des cellules. Par exemple, les grandes cellules nerveuses reliant notre moelle épinière aux muscles du gros orteil produisent de longs prolongements, les *axones*, qui couvrent toute la distance. Le cytoplasme de l'axone renferme des microtubules servant au transport motorisé des matériaux tout au long de l'axone.

Autre exemple : les cellules musculaires débutent comme *myoblastes*, précurseurs des cellules musculaires adultes. Elles finissent par se différencier en volumineuses *fibres musculaires* multinucléées des muscles squelettiques des mammifères. Ces modifications débutent par

l'expression du gène *MyoD1*, qui code un facteur de transcription s'unissant aux promoteurs des gènes de détermination des muscles qui déclenchent ces changements.

## La mort cellulaire programmée est nécessaire pour le développement

Toutes les cellules produites au cours du développement ne sont pas destinées à survivre. Par exemple, les doigts et les orteils des embryons humains sont palmés au début de leur développement. Les cellules qui les relient meurent pendant le déroulement normal de la morphogenèse. Autre exemple : les embryons des vertébrés produisent un très grand nombre de neurones, garantissant qu'il y en aura assez pour réaliser toutes les connexions synaptiques nécessaires, mais plus de la moitié de ces neurones ne forment jamais de connexions et meurent de façon contrôlée au cours du développement du système nerveux.

Contrairement à la mort accidentelle des cellules après une blessure, ces morts cellulaires sont planifiées – et elles sont en fait nécessaires – pour un développement et une morphogenèse corrects. En général, les cellules qui meurent à la suite d'une blessure gonflent et éclatent, libérant leur contenu dans le liquide extracellulaire. Cette forme de mort cellulaire est une nécrose. Au contraire, les cellules dont la mort est programmée se ratatinent et se contractent au cours d'un processus appelé apoptose, ce qui signifie « chute », et leurs restes sont récupérés par les cellules voisines.

### Contrôle génique de l'apoptose

L'apoptose survient après l'activation d'un « programme de mort ». Toutes les cellules animales paraissent posséder ces programmes. Chez *C. elegans*,

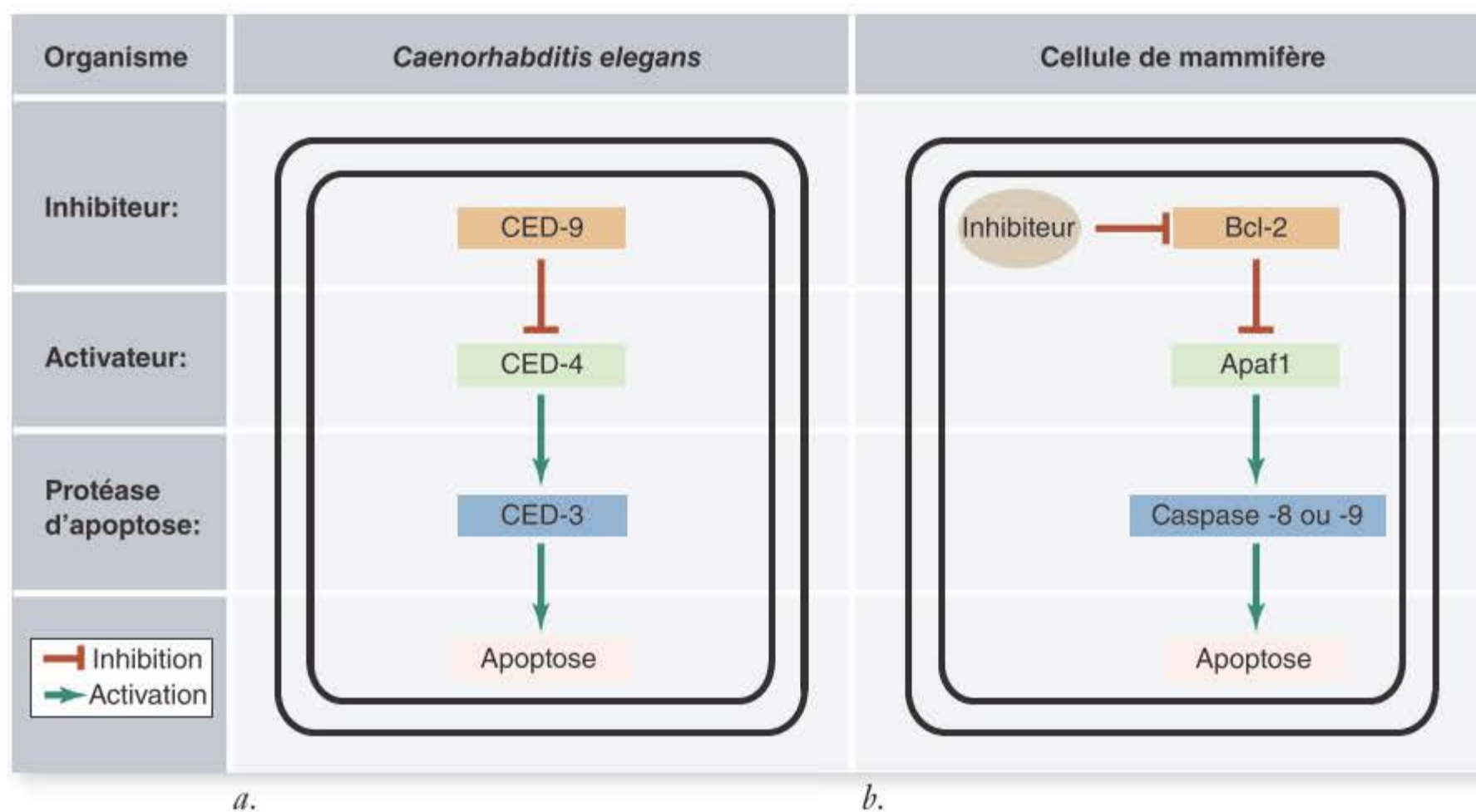
par exemple, ce sont toujours les mêmes 131 cellules qui meurent au cours du développement selon un mode prévisible et constant d'apoptose.

Les recherches sur *C. elegans* ont montré que trois gènes sont au centre de ce processus. Deux (*ced-3* et *ced-4*) activent le programme de mort lui-même ; en cas de mutation de l'un d'eux, ces 131 cellules ne meurent pas et vont former un tissu nerveux ou un autre tissu. Le troisième gène (*ced-9*) réprime le programme de mort codé par les deux autres. Toutes les 1090 cellules de l'embryon de *C. elegans* meurent chez les mutants de *ced-9*. Chez les doubles mutants *ced-9/ced-3*, les 1090 cellules restent vivantes, ce qui suggère que *ced-9* empêche la mort cellulaire en agissant avant *ced-3* dans la voie de l'apoptose.

Le mécanisme d'apoptose paraît avoir été bien conservé pendant l'évolution des animaux. Dans les cellules nerveuses humaines, le gène *Apaf1* est semblable à *ced-4* de *C. elegans* et il active le programme de mort cellulaire, et le gène humain *bcl-2* agit comme *ced-9* pour empêcher l'apoptose. Si l'on transfère un exemplaire du gène humain *bcl-2* dans un nématode avec un gène *ced-9* déficient, il supprime le programme de mort cellulaire de *ced-3* et *ced-4*.

### Le mécanisme d'apoptose

Le produit du gène *ced-4* de *C. elegans* est une protéase qui active le produit du gène *ced-3*, une autre protéase. Le gène humain *Apaf* doit son nom à sa fonction : facteur d'activation de la protéase apoptotique (*Apoptotic Protease Activating Factor*). Il active deux protéases appelées caspases, dont le rôle est semblable à celui de la protéase *Ced-3* de *C. elegans* (figure 19.19b). Quand les protéases finales sont activées, elles dégradent les protéines de structures cellulaires importantes comme le cytosquelette et la lame nucléaire, et entraînent la fragmentation de la cellule.



**Figure 19.19 La mort cellulaire programmée.** L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, est nécessaire au développement normal de tous les animaux. *a.* Chez ce nématode en développement, par exemple, deux gènes, *ced-3* et *ced-4*, codent des protéines entraînant la mort programmée de 131 cellules spécifiques. Dans les autres cellules (qui survivent) du nématode en développement, le produit d'un troisième gène, *ced-9*, réprime le programme de mort codé par *ced-3* et *ced-4*. *b.* Chez les mammifères, les homologues des gènes d'apoptose de *C. elegans* sont *bcl-2* (homologue de *ced-9*), *Apaf1* (pour *ced-4*) et *caspase-8* ou *-9* (pour *ced-3*). En l'absence de tout facteur de survie cellulaire, *Bcl-2* est inhibé et il y a apoptose. En présence du facteur de croissance des nerfs (NGF) et après son union au récepteur de NGF, *Bcl-2* est activé et empêche l'apoptose.

Le rôle de Ced-9/Bcl-2 est l'inhibition de ce programme. Il inhibe spécifiquement la protéase d'activation et empêche l'activation des protéases destructrices. Tout le processus est ainsi contrôlé par un inhibiteur du programme de mort.

Des signaux internes et externes contrôlent le statut de l'inhibiteur Ced-9/Bcl-2. Par exemple, dans le système nerveux humain, les neurones possèdent un inhibiteur de Bcl-2 permettant la poursuite du programme de mort (voir figure 19.19b). En présence du facteur de croissance des nerfs, une voie de transduction des signaux entraîne l'inactivation de l'inhibiteur cytoplasmique et la survie de la cellule nerveuse.

## La migration installe les bonnes cellules au bon endroit

La migration des cellules est importante à beaucoup de stades du développement des animaux. Le mouvement des cellules implique adhérence et perte de cette adhérence. L'adhérence est nécessaire à la « traction » des cellules, mais les cellules initialement attachées à d'autres doivent perdre cette adhérence pour pouvoir migrer.

Le mouvement des cellules implique aussi des interactions avec leur substrat, et la matrice extracellulaire peut contrôler l'ampleur de la migration cellulaire ou son trajet. Le paradigme au centre des mouvements cellulaires morphogènes dans les animaux est une modification de l'adhérence des cellules, induite par des changements dans la composition des macromolécules des membranes plasmiques des cellules ou de la matrice extracellulaire. Les interactions entre cellules sont souvent dues à des cadhérines, mais les interactions entre cellules et substrat impliquent souvent des interactions entre intégrines et matrice.

### Les cadhérines

Les cadhérines sont codées par une vaste famille de gènes, dont plus de 80 membres ont été identifiés chez l'homme. Dans les génomes de la drosophile, de *C. elegans* et des humains, on peut répartir les cadhérines en quatre sous-familles présentes dans les trois génomes.

Toutes les cadhérines sont des protéines transmembranaires possédant un motif commun, le *domaine cadhérine*, long de 110 acides aminés, dans la portion extracellulaire de la protéine qui intervient dans la liaison dépendante de  $Ca^{2+}$  entre cadhérines semblables (liaison homophile).

Les expériences réalisées sur des cellules qui ont pu s'associer in vitro montrent la fonction des cadhérines. Les cellules possédant les mêmes cadhérines adhèrent spécifiquement les unes aux autres, mais pas avec les cellules possédant d'autres cadhérines. Si l'on disperse des populations cellulaires possédant des cadhérines différentes et si on les laisse se réunir, elles s'associent en deux populations cellulaires basées sur la nature des cadhérines de leur surface.

On peut voir un exemple de l'action des cadhérines dans le développement du système nerveux des vertébrés. Toutes les cellules de l'ectoderme superficiel de l'embryon expriment la cadhérine-E. Le développement du système nerveux débute quand une bande centrale de cellules de la face dorsale de l'embryon cesse de synthétiser la cadhérine-E et commence à exprimer la cadhérine-N. Pendant la neurulation, ou formation du tube neural (voir chapitre 53), la bande centrale de cellules exprimant la cadhérine-N se replie en tube. Le tube neural se détache des cellules sous-jacentes, qui continuent à synthétiser la cadhérine-E. Les cellules superficielles à l'extérieur du tube se différencient en épiderme, tandis que le tube neural donne le cerveau et la moelle épinière de l'embryon.

### Les intégrines

Une grande partie de certains tissus, comme les tissus conjonctifs, est représentée par les espaces *entre* cellules. Ces espaces sont occupés par un réseau de molécules sécrétées par les cellules environnantes, la *matrice*. Dans un tissu conjonctif comme le cartilage, les longues chaînes polysaccharidiques sont unies par covalence à des protéines (protéoglycane) dans lesquelles sont enrobés des filaments de protéines fibreuses (collagène, élastine et fibronectine). Les cellules en migration traversent cette matrice en s'y unissant par des protéines de la surface cellulaire, les intégrines.

Les intégrines sont attachées aux filaments d'actine du cytosquelette et font saillie à la surface de la cellule par paires, comme deux mains. Ces « mains » saisissent un composant spécifique de la matrice, comme le collagène ou la fibronectine, reliant ainsi le cytosquelette aux fibres de la matrice. Outre qu'elle sert d'ancrage, cette liaison peut mettre en route des modifications au sein de la cellule, modifier la croissance du cytosquelette et activer l'expression génique et la synthèse de nouvelles protéines.

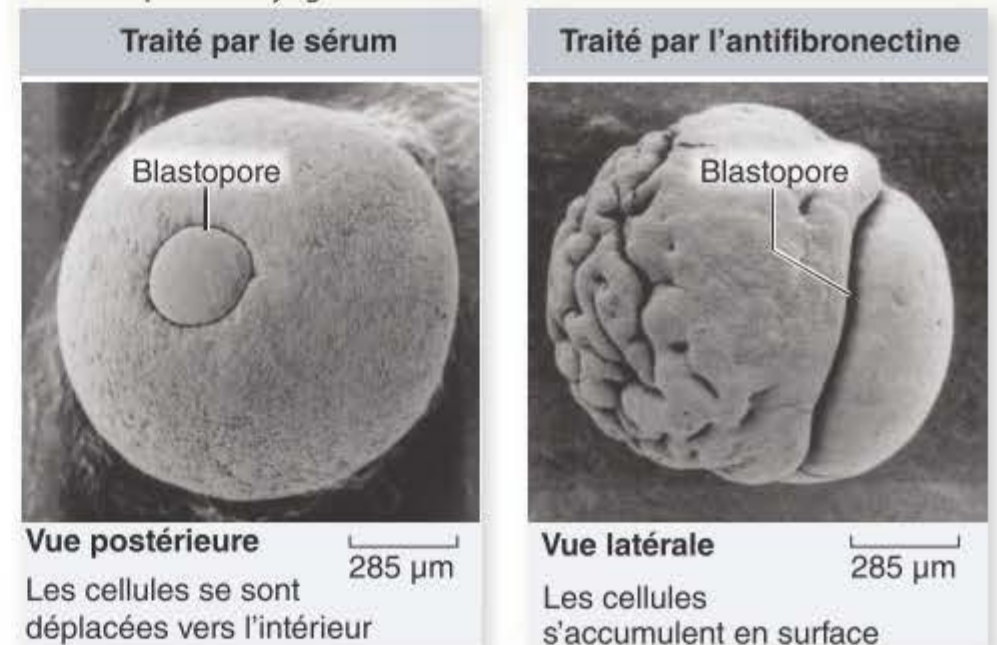
Pendant la **gastrulation** (décrite en détail au chapitre 53), la sphère creuse des cellules embryonnaires animales se replie sur elle-même en une structure pluriassissiale ; ce processus dépend d'interactions entre fibronectine et intégrine. Par exemple, l'injection d'anticorps contre la fibronectine ou les intégrines dans des embryons de salamandre

#### DÉMARCHE SCIENTIFIQUE

**Hypothèse:** la fibronectine est nécessaire à la migration des cellules pendant la gastrulation.

**Prédiction:** le blocage de la fibronectine par des anticorps antifibronectine avant la gastrulation devrait empêcher le déplacement des cellules.

**Test:** on a injecté, dans des embryons de salamandre, un anticorps antifibronectine ou un sérum pré-immune comme témoin avant la gastrulation. Le déplacement des cellules a été vérifié par microscopie électronique à balayage.



**Résultat:** les embryons qui ont reçu l'anticorps antifibronectine montrent une gastrulation extrêmement aberrante, les cellules s'accumulant sans entrer dans l'embryon. La gastrulation est normale dans les embryons témoins.

**Conclusion:** la fibronectine est nécessaire à la migration des cellules à l'intérieur de l'embryon pendant la gastrulation.

**Autres expériences:** comment utiliser ce même système pour analyser le rôle de la fibronectine dans d'autres événements morphogénétiques précoces ?

**Figure 19.20** La fibronectine est nécessaire à la migration des cellules pendant la gastrulation.

bloque la liaison des cellules à la fibronectine dans la matrice et empêche la gastrulation. Le résultat fait penser à un énorme bouchon après un grave accident de la route : les cellules (les voitures) ne cessent d'arriver, mais elles sont refoulées, ne pouvant traverser la zone d'inhibition (le site de l'accident) (figure 19.20). De même, une inhibition ciblée du gène de la fibronectine de la souris entraîne de graves problèmes de migration, prolifération et différenciation des cellules du mésoderme embryonnaire.

La migration cellulaire est donc en grande partie affaire de changement de l'adhérence cellulaire. En voyageant, la cellule émet continuellement des protubérances qui testent la nature de son environnement. Ainsi tirée à la suite de différentes tentatives de liaison, la cellule cherche littéralement sa voie vers sa localisation ultime.

## Questions d'apprentissage 19.6

La morphogenèse est la réalisation d'une forme et d'une structure ordonnées. Ce processus va de pair avec la différenciation cellulaire. Les principaux mécanismes morphogénétiques sont le changement de forme des cellules et leur migration. L'apoptose est une mort cellulaire programmée et fait nécessairement partie de la morphogenèse. Chez les animaux, la migration des cellules implique des modifications successives d'adhérence induites par les cadhérines et les intégrines.

- Pourquoi la mort cellulaire est-elle importante pour la morphogenèse ?

## Résumé

### 19.1 Le mécanisme du développement

Le développement est une succession de modifications systématiques, dirigées par des gènes, se déroulant pendant tout le cycle vital. Les quatre étapes du développement sont la croissance, la différenciation cellulaire, la formation d'un plan et la morphogenèse.

### 19.2 La division cellulaire

*Le développement débute par la division cellulaire.*

Chez les animaux, la segmentation divise l'œuf fécondé en un grand nombre de petites cellules, les blastomères. Pendant la segmentation, les phases  $G_1$  et  $G_2$  du cycle cellulaire sont raccourcies ou supprimées (figure 19.2).

*On connaît toutes les divisions cellulaires durant le développement de *C. elegans*.*

La lignée de 959 cellules somatiques adultes de *Caenorhabditis elegans* est invariable. Connaissant les étapes et la finalité de la différenciation, il est possible d'étudier les mécanismes du développement.

*La croissance des plantes dépend de zones spécifiques, les méristèmes.*

La croissance des plantes se poursuit pendant toute leur vie à partir de cellules souches méristématiques capables de se diviser et de se différencier pour donner tous les tissus végétaux.

### 19.3 La différenciation cellulaire

*Les cellules sont déterminées avant de se différencier.*

La détermination engage la cellule dans une voie particulière de développement avant sa différenciation. Ce stade n'est pas apparent, mais on peut le mettre en évidence expérimentalement. La détermination est due à une hérédité différentielle de facteurs cytoplasmiques et/ou nucléaires ou à des interactions entre cellules.

*La détermination peut être due à des déterminants cytoplasmiques et/ou nucléaires.*

Chez les tuniciers, la détermination des cellules musculaires de la queue repose sur la présence de l'ARNm du facteur de transcription Macho-1, qui est déposé dans le cytoplasme de l'ovule durant la formation des gamètes.

*L'induction peut aboutir à la différenciation cellulaire.*

L'induction provient de la synthèse et de la sécrétion, par un type cellulaire, de molécules de signalisation qui induisent l'expression génique dans des cellules cibles voisines.

Chez les grenouilles, les cellules des pôles animal et végétatif ne produisent pas de mésoderme quand elles sont isolées. Chez les tuniciers, un signal donné par le facteur de croissance FGF induit le développement du mésoderme.

*Les cellules souches peuvent se diviser et donner des cellules qui se différencient.*

Les cellules souches se reproduisent par division et sont à l'origine de cellules qui se différencient. Les cellules souches totipotentes peuvent donner naissance à tous les types de cellules, y compris les tissus extra-embryonnaires ; les cellules pluripotentes peuvent donner toutes les cellules de l'organisme ; les cellules souches multipotentes peuvent donner naissance à beaucoup de types de cellules.

*Les cellules souches embryonnaires sont des cellules pluripotentes dérivées des embryons.*

Les cellules souches embryonnaires dérivent de la masse cellulaire interne du blastocyste (figure 19.8). Elles peuvent se différencier en tous les types de cellules adultes de la souris.

### 19.4 La reprogrammation nucléaire

*Le clonage a été possible en inversant la détermination.*

Les cellules ne subissent pas de changements irréversibles pendant le développement. Après transplantation, les cellules provenant de donneurs âgés sont cependant moins aptes à diriger un développement complet. Le clonage du mouton Dolly a montré que le noyau d'une cellule adulte peut être reprogrammé et devenir totipotent (figure 19.9).

*Il existe des problèmes inhérents au clonage reproducteur.*

Le clonage reproducteur est peu efficace et les clones souffrent souvent de maladies liées à l'âge. Cette inefficacité provient de la difficulté de reprogrammer les modifications épigénétiques.

*Des facteurs définis sont utilisés pour reprogrammer le noyau.*

On peut transformer les cellules adultes en cellules pluripotentes par l'introduction de quatre gènes de facteurs de transcription. Ces cellules pluripotentes induites semblent les mêmes que les cellules SE.

Les cellules pluripotentes pourraient être utilisées pour remplacer des tissus.

L'utilisation de cellules clonées d'un patient pour remplacer des tissus endommagés pourrait éviter le problème du rejet des transplants. Des essais cliniques sont en cours pour le traitement d'une forme de cécité par l'utilisation de cellules souches induites.

## 19.5 Formation du plan de l'organisme

**L'embryogenèse de la drosophile donne une larve formée de segments.**

La participation des ARNm maternels et la production des cellules du blastoderme après la fécondation sont à l'origine d'un embryon segmenté.

**Des gradients de morphogènes forment les axes de base de la drosophile.**

La formation du plan aboutit à deux axes perpendiculaires dans un organisme à symétrie bilatérale. Une information de position affecte l'activité génique et les cellules adoptent ainsi une orientation correspondant à leur localisation.

La formation de l'axe antéro-postérieur (A/P) est basée sur des gradients opposés des morphogènes Bicoid et Nanos synthétisés à partir de leurs ARNm maternels (figure 19.14, 19.15).

L'axe dorso-ventral (D/V) est défini par un gradient du facteur de transcription Dorsal.

**Le plan de l'organisme repose sur une série d'activations de gènes.**

Des facteurs de transcription agissent successivement pour la division de l'embryon en segments.

**Les gènes homéotiques déterminent l'identité des segments.**

Des gènes homéotiques, appelés *Hox* parce qu'ils contiennent une séquence d'ADN dénommée homéoboîte, donnent leur identité aux segments de l'embryon.

**Le plan de base des plantes est aussi sous contrôle génétique.**

Les gènes *MADS*-box des plantes contrôlent la transition entre la croissance végétative et la reproduction, le développement des racines et l'identité des organes floraux.

## 19.6 La morphogenèse

**Pendant le développement, la division cellulaire peut aboutir à une cytokinèse inégale.**

**Les cellules changent de forme et de taille pendant la morphogenèse.**

L'orientation du fuseau mitotique peut être à l'origine de cellules de taille égale ou différente. La morphogenèse implique des changements de la forme, de la taille et de la migration des cellules.

**La mort cellulaire programmée est nécessaire pour le développement.**

L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, élimine des cellules ou des structures dès qu'elles ne sont plus nécessaires (figure 19.19).

**La migration installe les bonnes cellules au bon endroit.**

La migration des cellules implique l'adhérence et la perte d'adhérence entre les cellules et leur substrat.

Les interactions entre cellules sont souvent induites par des protéines, les cadhérines, tandis que les interactions entre les cellules et le substrat peuvent impliquer des interactions entre les intégrines et la matrice extracellulaire.

Les intégrines s'unissent aux fibres de la matrice extracellulaire. Le cytosquelette peut ainsi être modifié et l'expression génique activée.



## Questions

### COMPRÉHENSION

- Au cours du développement, les cellules
  - se différencient avant leur détermination.
  - sont déterminées avant de se différencier.
  - sont déterminées par perte de matériel génétique.
  - se différencient par perte de matériel génétique.
- La détermination provient de
  - l'action de déterminants cytoplasmiques.
  - l'induction par d'autres cellules.
  - la perte de chromosomes pendant la division cellulaire.
  - a et b sont corrects
- Les divisions rapides du début du développement sont possibles grâce au raccourcissement
  - du stade M.
  - du stade S.
  - des stades  $G_1$  et  $G_2$ .
  - tous ces choix sont corrects.
- Une cellule est pluripotente quand elle peut
  - se transformer en tous les types cellulaires de l'organisme.
  - produire une quantité indéfinie d'un seul type cellulaire.
  - produire une quantité limitée d'un type cellulaire spécifique.
  - produire de nombreux types cellulaires.
- Les méristèmes des plantes
  - ne sont présents que pendant le développement.
  - contiennent des cellules souches.
  - subissent la méiose.
  - tous ces choix sont corrects.
- La formation d'un plan implique que les cellules déterminent leur position dans l'embryon. Cela peut provenir
  - de la perte de matériel génétique.
  - de modifications de la structure des chromosomes.
  - de gradients de morphogènes.
  - de modifications du cycle cellulaire.
- La reprogrammation nucléaire
  - est une partie normale de la formation du plan.
  - inverse les modifications survenant pendant la différenciation.
  - exige l'introduction d'un nouvel ADN.
  - n'est pas possible pour les cellules de mammifères.

## APPLICATION

1. Quel est le thème commun lors de la détermination par induction ou par les déterminants cytoplasmiques ?
  - a. L'activation de facteurs de transcription.
  - b. L'activation de la division cellulaire.
  - c. Une modification de l'expression génique.
  - d. a et c sont corrects.
2. Le clonage reproductif
  - a. montre la possibilité d'une reprogrammation nucléaire.
  - b. est très efficace chez les mammifères.
  - c. donne toujours des animaux adultes identiques au donneur.
  - d. a et b sont corrects.
3. La production des axes antéro-postérieur et dorso-ventral de la drosophile
  - a. est basée dans les deux cas sur des gradients d'ARNm.
  - b. est fondamentalement semblable, mais il y a des différences mécaniques.
  - c. repose exactement sur les mêmes mécanismes.
  - d. est basée dans les deux cas sur des gradients de protéines.
4. Pour que la formation du plan soit possible, les cellules de l'embryon en développement doivent
  - a. « connaître » leur position dans l'embryon.
  - b. être déterminées pendant les toutes premières divisions.
  - c. se différencier dès leur « naissance ».
  - d. être toutes reprogrammées après chaque division cellulaire.
5. Tous les gènes codant les gradients de morphogènes de la drosophile ont été identifiés lors de criblages de mutants. On doit s'attendre à ce qu'une mutation qui élimine le gradient nécessaire au gradient de morphogène A/P
  - a. affecte la larve, mais pas l'adulte.
  - b. affecte l'adulte, mais pas la larve.
  - c. soit létale et aboutisse à un embryon anormal.
  - d. entraîne la substitution d'une structure adulte par une autre.

6. Quel serait le résultat probable d'une mutation du gène *bcl-2* pour l'apoptose ?
  - a. Pas de changement.
  - b. Une diminution de l'apoptose.
  - c. Une augmentation de l'apoptose.
  - d. Une diminution initiale de l'apoptose, suivie d'une augmentation.
7. Les gènes de la boîte *MADS* et de *Hox*
  - a. n'existent que chez les plantes et les animaux, respectivement.
  - b. n'existent que chez les animaux et les plantes, respectivement.
  - c. jouent des rôles semblables respectivement dans le développement des plantes et des animaux.
  - d. jouent des rôles semblables respectivement dans le développement des animaux et des plantes.

## RÉVISION

1. La figure 19.3, pour *C. elegans*, schématise le développement d'un organisme pluricellulaire à partir d'une seule cellule. Utilisez-la pour déterminer le nombre de divisions nécessaires à la production des populations de cellules qui deviendront (a) le système nerveux et (b) les gonades.
2. Regardez bien la figure 19.3. Notez que certains points de ramification (cellules filles) *ne* produisent *plus* de cellules. Quel est le mécanisme sous-jacent ?
3. Vous avez produit un lot de cellules embryonnaires mutantes de souris. Quelles sont les conséquences de chacune des mutations suivantes pour le développement.
  - a. Mutation knock-out pour la N-cadhérine
  - b. Mutation knock-out pour l'intégrine
  - c. Délétion du domaine cytoplasmique de l'intégrine.
4. Supposons que vous possédiez les facteurs nécessaires à la reprogrammation d'une cellule adulte et les facteurs nécessaires à l'induction de la différenciation de tous les types de cellules. Comment pourriez-vous les utiliser pour remplacer un tissu endommagé particulier dans un patient humain ?