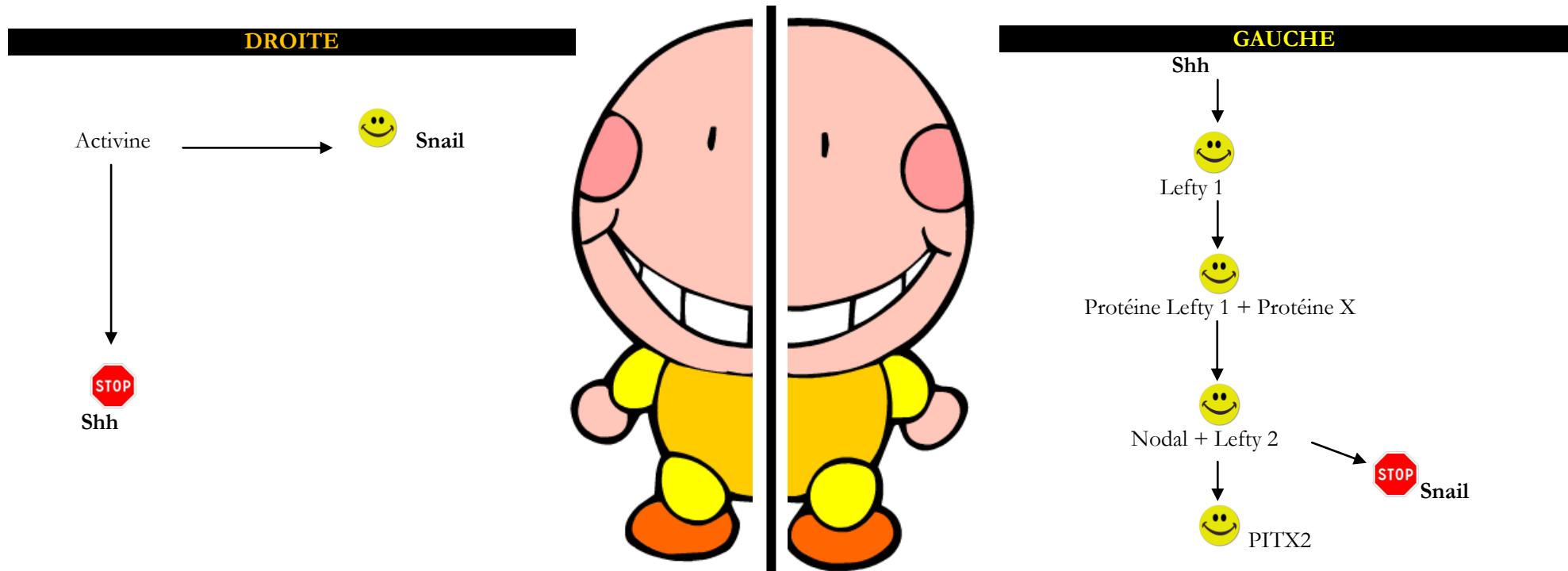


* Embryologie Moléculaire *

* **CARNEGIE 7** : Symétrie/Asymétrie, Droite/Gauche



• **DROITE** : gène Nodal absent. La présence de l'Activine entraîne l'inhibition du gène Shh, et l'activation du gène Snail. Le gène Snail actif uniquement à Droite, **mais présent des deux cotés**, est responsable en grande partie de la détermination Droite/Gauche.

• **GAUCHE** : gène Nodal présent et surexprimé. Ce gène est en grande partie responsable, dès la formation du Nœud de Hensen et de la Ligne primitive, de la détermination Droite/Gauche. ♥ **Nodal est exprimé à gauche grâce à la présence du gène Shh responsable d'une cascade d'activation génique.** En effet, le gène Shh permet l'activation du gène Lefty 1, permettant lui-même l'expression de sa propre protéine en association avec d'autres protéines diverses. A son tour la Protéine Lefty 1 active enfin Nodal ainsi que le gène Lefty 2. Le complexe Nodal + Lefty 2 est responsable de l'activation ultérieure du gène PITX2, tandis que le gène Lefty 2 s'occupe de l'inhibition du gène Snail à Gauche. **Nodal cesse d'être exprimé au cours du développement embryonnaire, PITX2 s'active alors et prend le relai uniquement à gauche.** Expérience : Lorsque PITX2 est surexprimé à Droite, ou lorsqu'il est inactivé à

Gauche, l'orientation de tous les organes internes est modifiée → **PITX2** peut être responsable à lui seul de l'orientation et de l'enroulement/rotation des organes internes au cours de leur mise en place.

* **CARNEGIE 7** : Gastrulation

Des modifications des **microfilaments d'actine** ainsi que des groupes cellulaires présents au sein de l'épiblaste entraînent un changement de l'aspect général de ce tissu au moment de la Gastrulation. Les cellules prennent, en s'étirant et en se contractant, un aspect en « **bouteille** ». Ce processus entraîne alors une courbure au sein du tissu épiblastique, dont l'invagination conduit à la formation de l'entoblaste puis à celle du mésoblaste. Ajouté à cela, les cellules de l'épiblaste synthétisent de la fibronectine, qui **guide la migration des futures cellules mésodermiques entre l'épiblaste et l'entoblaste**.

* **CARNEGIE 9 à 12** : Formation du Tube Neural

La plaque neurale s'enroule en gouttière neurale dès le CARNEGIE 9, aboutissant à la formation du Tube Neural aux CARNEGIES 10-11-12. Durant l'enroulement en gouttière, des modifications cellulaires apparaissent. En effet, par un phénomène de **polymérisation des Microtubules Axiaux**, les cellules de la plaque neurale s'allongent, puis les **Microfilaments transversaux** (constitués essentiellement d'actine) présents dans ces cellules se contractent, entraînant un rétrécissement de la zone apicale des cellules → **Les cellules prennent alors un aspect « cunéiforme » facilitant l'enroulement de la plaque en gouttière**. Durant tout le processus de neurulation, une action inductrice est exercée par la chorde et le mésoblaste sous-jacent. Les **cadhérines** (protéines membranaires d'adhésivité cellulaire Ca²⁺ dépendantes) participent également à la mise en place du tube neural → L'expression différentielle des cadhérines explique en partie la reconnaissance spécifique des cellules entre-elles. Lorsque la plaque neurale se referme pour

aboutir plus tard, au tube neural, aucun mélange ne se produit entre l'ectoblaste et le neur ectoblaste (ectoblaste épaissi ayant formé la plaque neurale). Cela est dû au fait que les Cadhérines E présentes dans le tissu Ectoblastique ne reconnaissent que d'autres cadhérines E. Idem, les cadhérines N présentes dans le Neurectoderme ne reconnaissent que d'autres cadhérines N.

* **CARNEGIE 9** : La migration des cellules des crêtes neurales

Ces cellules quittent le tube neural au moment de sa fermeture et migrent vers différents territoires pour s'y différencier : cellules nerveuses des ganglions

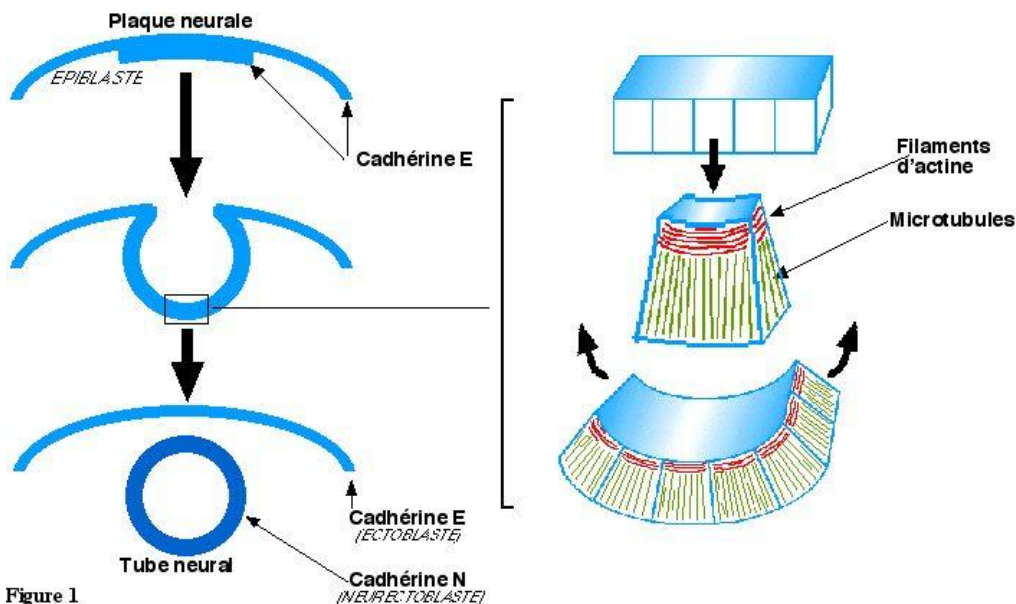
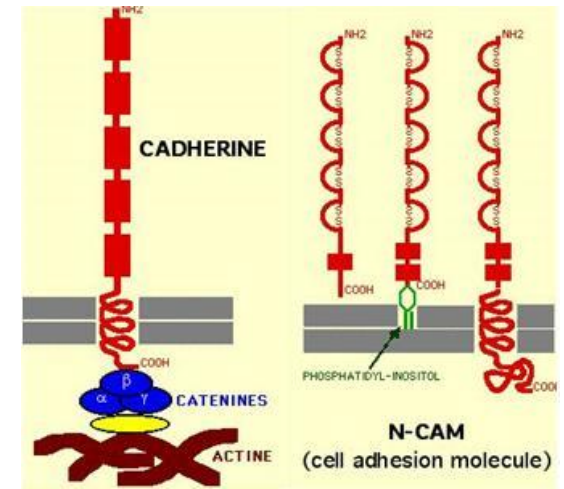


Figure 1



Laysing et Vr.Gane

rachidiens/ganglions sympathiques, cellules la médullo-surrénale, cellules gliales, cellules pigmentaires, cellules à l'origine des os du crâne, cellules endocrines (à ACTH ou à calcitonine). Les cellules des crêtes neurales migrent donc dans un espace extracellulaire **élargi par la grande quantité d'acide hyaluronique**.

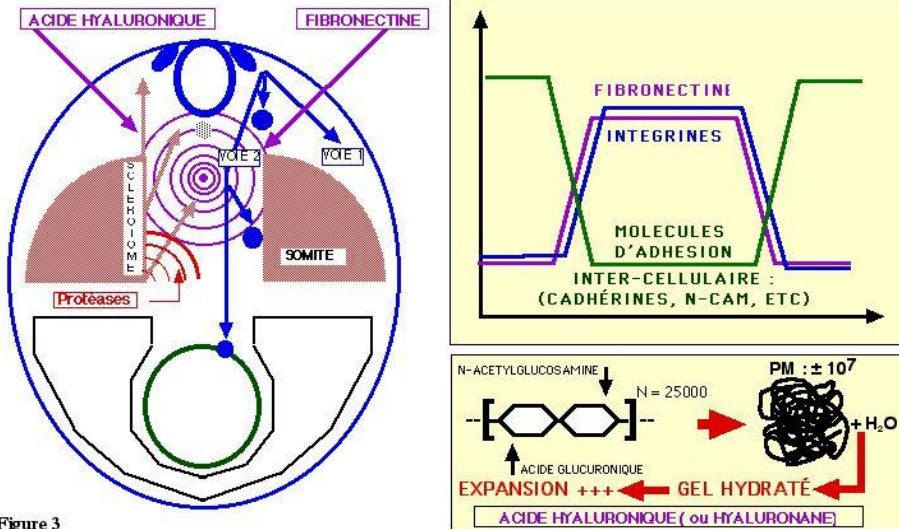


Figure 3

Les **N-CAM** (protéines membranaires d'adhésion indépendantes du calcium) et les **cadhérines disparaissent** des membranes des cellules des crêtes neurales durant leur migration, alors que des **intégrines membranaires apparaissent**. Pour se déplacer, les cellules se lient par des récepteurs membranaires spécifiques (intégrines, nouvellement apparues) aux molécules de la matrice extracellulaire (fibronectine et laminine).

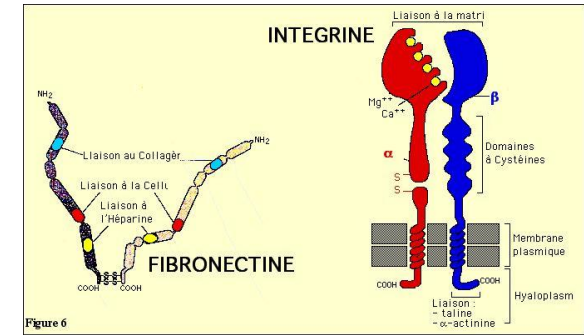


Figure 6

La capacité migratoire des cellules des crêtes neurales est également due à leur **activité protéasique** qui facilite la progression des cellules, en lysant les membranes basales. Les cellules des crêtes neurales qui formeront des **cellules non nerveuses** migrent entre l'ectoderme et les somites par **voie latérale**. Les cellules qui se différencieront en **cellules nerveuses** se déplacent entre les somites et le tube nerveux ou la corde par **voie ventrale**.

Elles se réassocient ensuite pour former les différents ganglions ou la médullosurrénale. A la fin de la migration cellulaire on constate une **réexpression des cadhérines et des N-CAM, favorables à l'adhésion des cellules**.

Les lames basales sont constituées de **tétramères de Collagène IV**, collagène sur lequel on retrouve des sites de reconnaissance spécifiques à la fibronectine, ayant elle-même des sites de reconnaissance aux intégrines des membranes des cellules de la crête neurale.

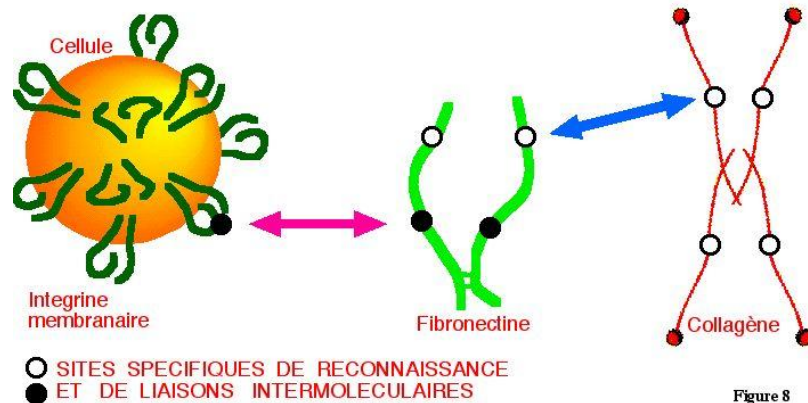


Figure 8

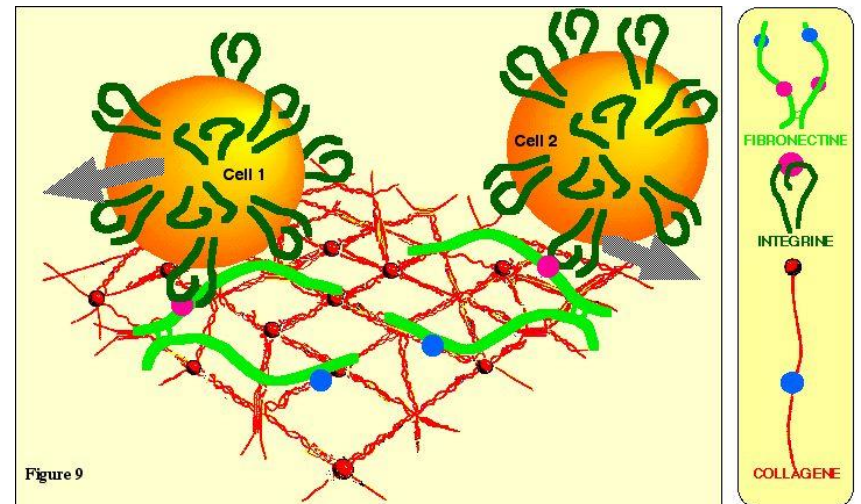


Figure 9

* **CARNEGIE 11** : La migration des cellules des sclérotomes

Après rupture de la membrane basale entourant le sclérotome primitif (intervention de protéases), la migration des cellules du sclérotome est favorisée par l'apparition dans l'environnement somitique para axial d'une matrice extracellulaire **riche en acide hyaluronique** (élargissement et œdème des espaces, facilitant la mobilité) et en **fibronectine**. La **fibronectine** a un rôle de "guidage" sur la trame matricielle par interaction avec les intégrines et la trame collagénique. Après migration, les cellules des sclérotomes s'immobilisent au niveau du tube neural et de la corde pour former les ébauches des vertèbres. La fin de cette migration cellulaire est concomitante **d'une diminution en acide hyaluronique et en fibronectine** dans la matrice extracellulaire.

* **CARNEGIE 11** : La migration des cellules germinales primordiales

Les cellules germinales primordiales vont migrer et coloniser les ébauches gonadiques, dans lesquelles elles formeront des gonies, cellules précurseurs des gamètes. Le déplacement cellulaire est guidé par un support matriciel essentiellement **à base de fibronectine**. Un chimiotactisme est exercé par l'épithélium germinatif qui est ainsi spécifiquement colonisé par les cellules germinales primordiales. **Des peptides régulateurs, tel le TGFβ, auraient un rôle inducteur dans le chimiotactisme** facilitant la reconnaissance puis l'implantation spécifique des cellules germinales dans cette zone strictement localisée de l'épithélium coelomique.

* **CARNEGIE 12** : Gènes Hox, organisation antéropostérieure de l'embryon et morphogénèse des membres - Les quatre complexes HOX

Les gènes Hox se répartissent en quatre complexes (HOX A, B, C, D) localisés sur quatre chromosomes différents.

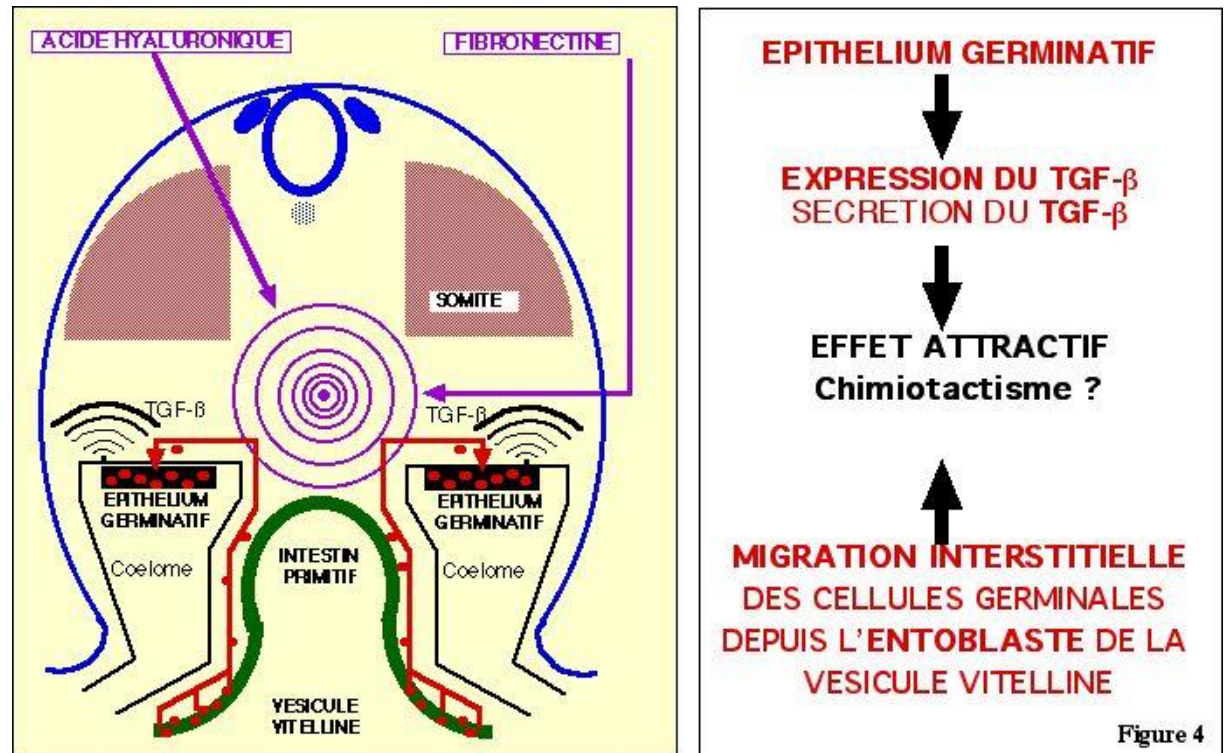


Figure 4

♥ L'ordre des gènes Hox dans un complexe est le même que celui de leurs limites antérieures d'expression le long de l'axe antéropostérieur de l'embryon → plus un gène est localisé en 3' d'un complexe, plus sa limite antérieure d'expression est antérieure dans l'embryon (règle de colinéarité spatiale), et plus il est exprimé précocement (règle de colinéarité temporelle). **Cela signifie que plus un gène est proche de la terminaison 3' sur un brin d'ADN, plus il est exprimé dans la zone antérieure de l'embryon, et plus il est exprimé tôt dans le développement de l'embryon.** Dans les zones métamérisées, la limite d'expression antérieure est toujours brutale et nette. La limite d'expression postérieure est souvent plus diffuse. Deux gènes situés à

la même position relative dans deux complexes différents présentent plus d'homologies entre eux que deux gènes voisins d'un même complexe → Cela signifie que 2 gènes ayant la même position sur deux morceaux d'ADN distincts ont beaucoup plus de points communs que deux gènes situés sur le même morceau d'ADN mais à des positions différentes. Les gènes situés au même niveau dans chaque complexe HOX sont qualifiés de gènes paralogues. Ils peuvent s'exprimer simultanément dans une même zone embryonnaire et forment un complexe d'expression.

CONTRÔLE GENIQUE DU DEVELOPPEMENT : LES HOMEOMERES

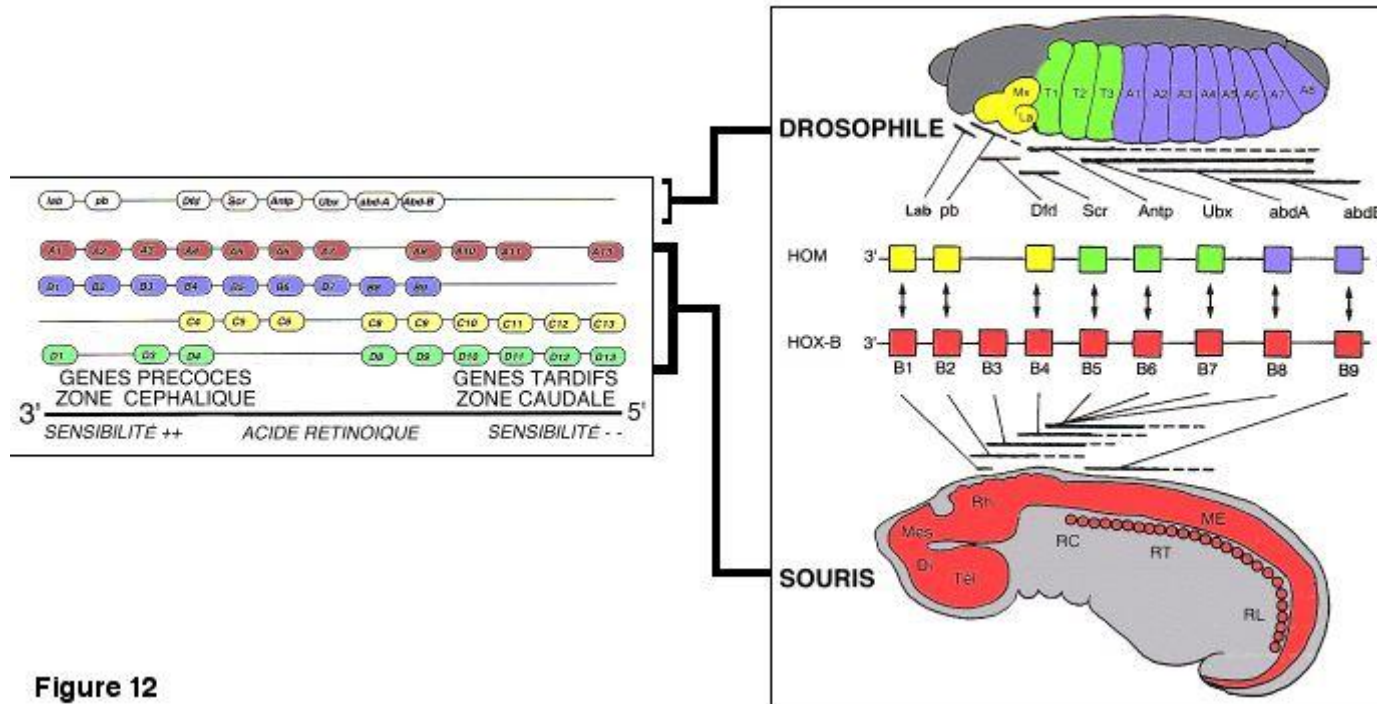


Figure 12

colinéarité spatiale selon **l'axe proximo-distal pour les gènes Hox-A** et selon **l'axe antéropostérieur pour les gènes Hox-D** (important ♥).

Le contrôle de l'expression des gènes Hox par l'acide rétinoïque

L'acide rétinoïque (dérivé de la vitamine A) est synthétisé et sécrété par certaines cellules embryonnaires, **par le nœud de Hensen lors de la gastrulation et par la zone d'action polarisante dans le bourgeon du membre**. Son caractère lipophile lui permet de traverser les membranes. Il agit dans le noyau des cellules cibles en se fixant à un récepteur actif sur la transcription des gènes Hox. La sensibilité des gènes Hox à l'acide rétinoïque dépend de la position sur le chromosome, **les gènes situés en position 3' étant les plus sensibles**. Ce gradient de sensibilité se retrouve dans l'embryon : **la sensibilité est**

Territoires d'expression des gènes Hox

Ces gènes s'expriment à partir de la gastrulation. Leurs domaines d'expression correspondent à des régions strictement définies de l'embryon. Certains gènes Hox s'expriment dans des territoires embryonnaires caractérisés par une organisation segmentaire : **rhombomères, arcs branchiaux, sclérotome des somites et squelette axial**. Dans le rhombencéphale, la limite antérieure d'expression des gènes Hox situés le plus en 3' dans chaque complexe coïncide avec les frontières entre rhombomères. ♥ **Cela signifie que c'est l'expression des gènes Hox à proximité du 3' qui est responsable de la segmentation du rhombencéphale en rhombomères.**

Les gènes Hox s'expriment également dans des territoires non métamérisés : bourgeons des membres en développement, avec une

maximale dans la zone antérieure de l'embryon. L'acide rétinoïque est certes nécessaire au développement homéotique, mais il peut aussi devenir tératogène. Un excès d'acide rétinoïque exogène provoque des transformations homéotiques en repoussant vers l'arrière la limite d'expression des gènes Hox les plus postérieurs. De même, l'acide rétinoïque endogène réparti suivant un gradient de concentration dans le bourgeon du membre (maximum dans la ZAP) est impliqué dans la différenciation antéropostérieure du membre en activant plus particulièrement les gènes Hox-D.

* **CARNEGIE 12-13**: Déterminisme précoce au niveau des membres

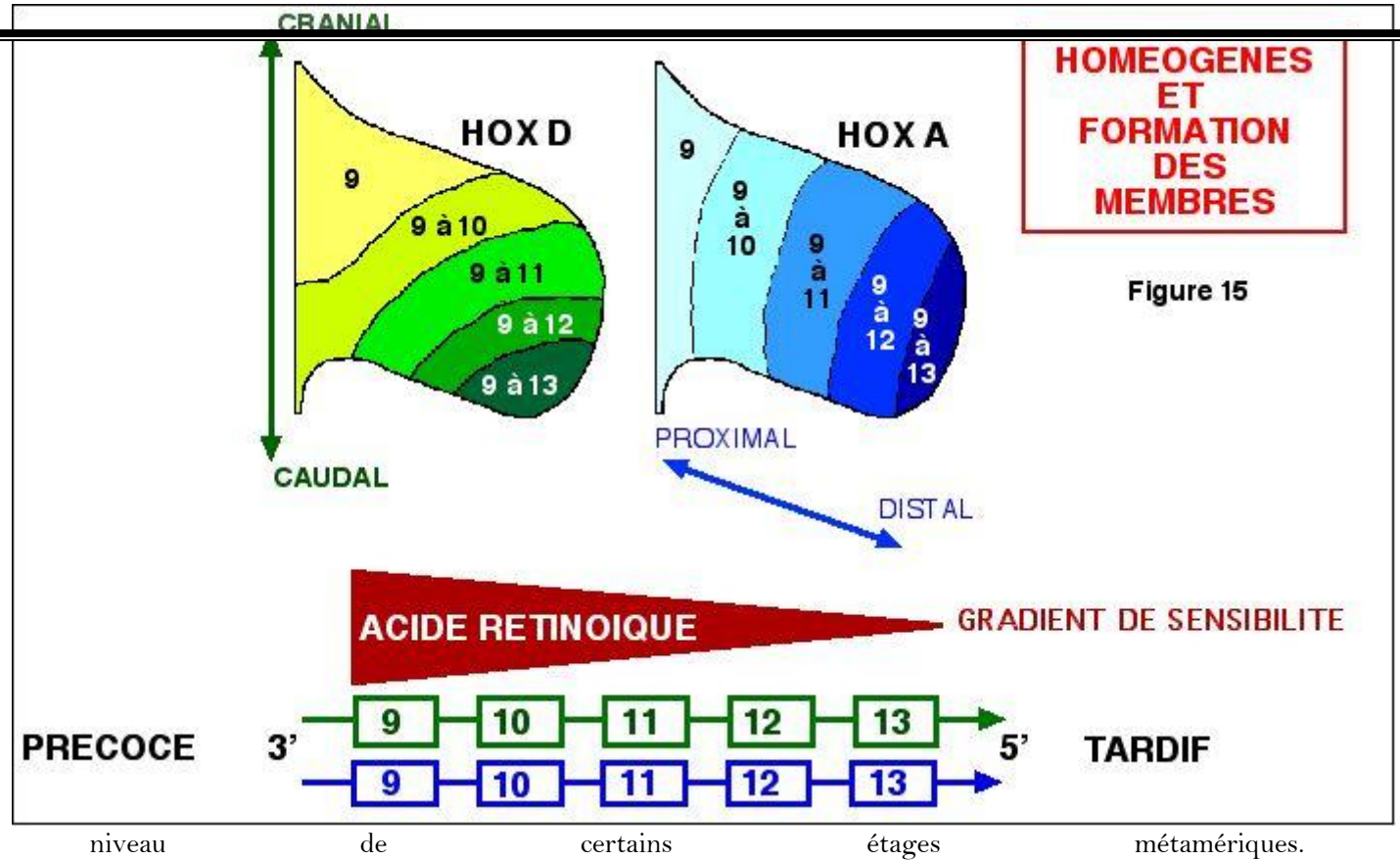
Au niveau des membres, des territoires présomptifs existent avant l'apparition d'un bourgeonnement au

Transplantation chimérique de somites

- Un somite prélevé dans le territoire présomptif d'un membre chez la caille et transplanté chez le poulet, induit chez ce dernier la croissance d'un membre où toutes les cellules musculaires du membre sont de type caille → spécificité à déterminisme régional : seul un somite prélevé à l'étage métamérique présomptif du membre (supérieur ou inférieur) possède cette propriété. L'induction somitique (le myotome) est certes une condition nécessaire pour le développement musculaire, mais elle est insuffisante pour obtenir le développement complet du membre.

Mise en jeu du mésoderme environnant de l'étage métamérique

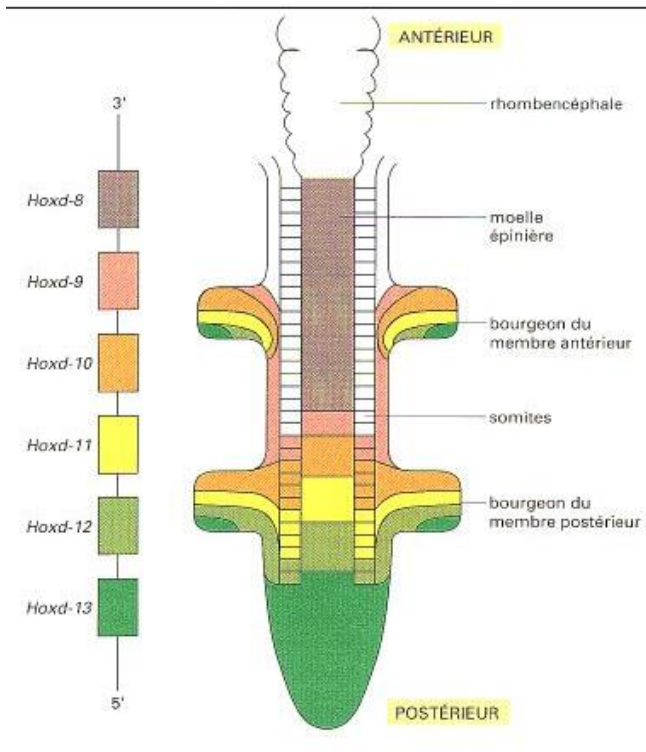
- Le mésoderme environnant est plus diffus mais correspond à un champ présomptif de morphogénèse du membre. Il possède des composantes de la lame latérale primitive (cellules mésenchymateuses diffuses), et de la somatopleure en regard du futur bourgeon du membre. **La lame intermédiaire est également inductrice de la croissance des membres** (lame néphrogène à l'étage mésonéphrotique). **Expériences** : l'interposition d'une feuille étanche entre le mésonéphros et les ébauches présomptives des membres, ou bien l'exérèse (ablation) du mésonéphros = corps de Wolff,



empêchent la croissance homolatérale des membres → La lame intermédiaire (et plus particulièrement le mésonéphros) joue un rôle très important dans l'induction des membres.

Principaux facteurs de signalisation responsables de cette induction précoce

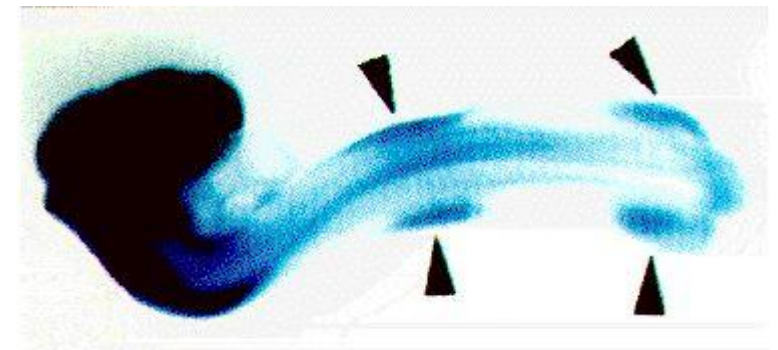
• Précocement certains gènes HOX (**D9 et D10**) s'expriment quasi simultanément dans les **groupes de somites** impliqués dans la croissance des membres. Les IGF, et plus probablement l'IGF1, sont nécessaires à l'induction des membres → ♥ **le mésonéphros exprime fortement les IGF, et l'imprégnation par l'implantation de billes d'IGF1 peut compenser l'ablation du mésonéphros et restaurer la croissance des membres.** Certains variants moléculaires du FGF (Fibroblast Growth Factor = Facteur de Croissance pour les monolingues☺) sont aussi impliqués : l'expression du FGF10 est très précoce dans le mésoderme du territoire présomptif, avant même l'apparition du membre. D'autres types de FGF sont exprimés plus tardivement.

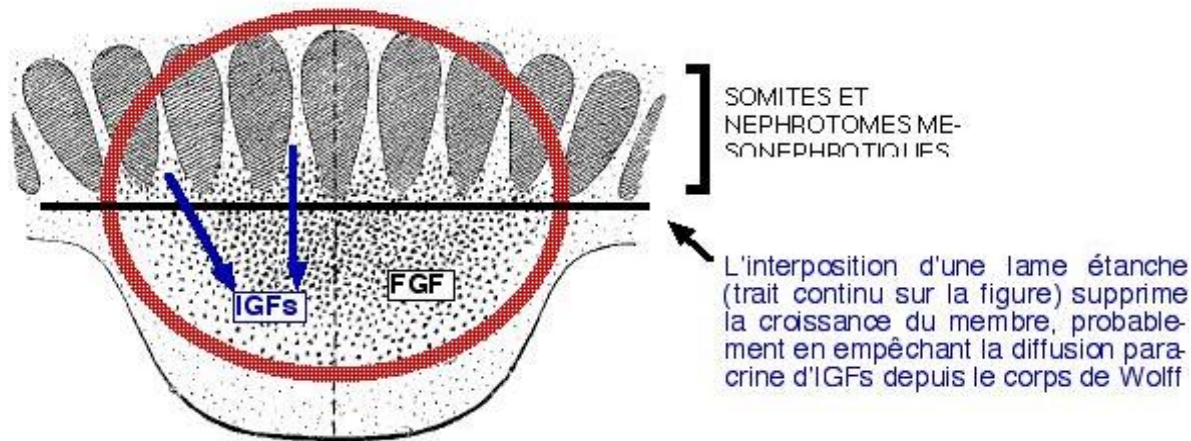


Très précocement certains gènes HOX (D9 et D10) s'expriment plus spécifiquement aux étages somitiques correspondant au niveau d'apparition des membres. Cette expression s'étend ensuite dans le bourgeon du membre en croissance. La poursuite de l'expression des gènes HOX-D (D9 à D13) dans le membre en croissance participera à la polarité cranio-caudale, en particulier à la détermination myogénique des différents groupes musculaires, mais encore plus au déterminisme différentiel des doigts.

Le FGF : un facteur de croissance d'initiation précoce de l'ébauche des membres

• Le gène du FGF s'exprime dans le mésoblaste précoce sous le tégument, avant même l'apparition des membres. Si des cellules fibroblastiques sont transfectées pour exprimer le FGF(10) et greffées sous le tégument d'un embryon précoce on obtient une **ébauche surnuméraire** d'un membre dans la zone d'implantation.





Les cellules de la lame latérale et de la somatopleure en regard de certains somites représentent un territoire présomptif (champ du membre, figuré par l'ovale sur cette figure). Ces cellules, en proliférant, initient l'ébauche du bourgeon du membre. Elles expriment des variants du FGF (FGF10)

♥ Le FGF est un facteur de croissance à fonction paracrine, inducteur précoce des membres.

L'implication de gènes homéotiques dans le développement d'un membre : contrôle du gradient cranio-caudal et proximo distal.

- Les homéogènes servent à établir un système de coordonnées tridimensionnelles permettant l'expression harmonieuse des différentes structures de l'embryon.

- Avant l'expression des gènes HOX paralogues dans le membre, d'autres homéogènes nécessaires s'expriment. → **Msx-1 est induit dans les cellules de la zone de progression sous l'influence de la crête ectoblastique.** Msx-1 est indispensable pour

maintenir en mitose les cellules de la zone de progression. Il s'agit d'une induction de la prolifération, à distinguer de l'induction de Shh (également dans la zone de progression et par la crête) dont les conséquences portent surtout sur la différenciation des cellules (non sur la prolifération).

- L'expression des homéogènes Hox produit dans le membre est parfaitement orientée dans les 3 dimensions de l'espace. Il y a donc respect de la loi de colinéarité temporelle et de colinéarité spatiale entre l'orientation transcriptionnelle 3'-5' et le développement embryonnaire. **La colinéarité spatiale s'effectue selon l'axe cranio-caudal (antéropostérieur) pour les gènes HOX D et selon l'axe proximodistal pour les gènes HOX A.** C'est au niveau des doigts et pour les gènes HOX D, que l'existence de prototypes d'expression spécifiques est la mieux démontrée. ♥ La maturation du doigt antérieur ne nécessite que D9 + D10 (pouce, gros orteil). Au contraire l'expression du doigt distal (petit doigt) nécessite l'expression de tous les gènes de D9 à D13. Les doigts intermédiaires ont des patrons d'expression reliés à l'expression d'un nombre croissant de gènes HOX D, allant de D9 jusqu'à D13. Ce qu'il faut comprendre ici : **plus on s'éloigne du pouce (ou gros orteil) pour aller vers le petit doigt (ou petit orteil) plus on a besoin d'exprimer de gènes.** Expérience de Morgan : transfection sur des embryons de poulet de façon à faire exprimer en continu le gène HOX D11. Résultat : le premier orteil antérieur disparaît pour faire place à 2 orteils N°2 (Explications : le 1^{er} doigt nécessite l'expression isolée de D9+D10. Ici D11 s'exprime plus tôt que prévu vu qu'il est transfecté à l'avance, donc pas de doigt n°1. Par contre, 2 fois plus de doigts nécessitant D11, donc de doigt n°2 ... Capito ?)

- Il y a donc bien un codage 3D par les gènes HOX. Il faut savoir qu'il existe une coopérativité entre les différents gènes HOX paralogues (au moins D et A dans le membre).



Comment vous dire ...

Vos Tutrices d'Amour vous disent à tous un **MEGA-GIGA-SUPRA-ENOOOOORME MERDE** (on est restées vachement sobres sur les images...).