

Chapitre III : Les gènes du développement

Les gènes homéotiques

Le programme de développement d'un organisme est inscrit dans son patrimoine génétique. Les cellules issues d'une même cellule-œuf ayant la même information génétique mais des destinées différentes, on s'est longtemps demandé ce qui gouvernait l'identité positionnelle des différentes structures au cours du développement. Les premiers éléments de réponse ont été fournis par l'étude de certaines mutations génétiques changeant le cours du développement chez la drosophile.

Le rôle des gènes sélecteurs est d'informer les cellules de leur position au cours de l'embryogenèse et de préciser leur positionnement définitif dans l'embryon au cours de la formation des organes par rapport aux axes antéro-postérieur et dorso-ventral. Ainsi, chez la drosophile, les gènes homéotiques appartenant au code **HomC** contrôlent la spécialisation antéropostérieure des segments. De même chez les vertébrés, deux grands groupes de gènes sélecteurs sont impliqués dans l'embryogenèse : les gènes **Hox** et **Pax** qui définissent le **positionnement cellulaire** respectivement le long des axes antéropostérieur et dorsoventral de certains organes tels que par exemple le système nerveux central.

Au niveau moléculaire, ces gènes interagissent directement avec la molécule d'ADN pour réguler l'expression d'autres gènes. On dit qu'ils ont un rôle sélecteur. Ils appartiennent donc à la grande famille des facteurs de transcription.

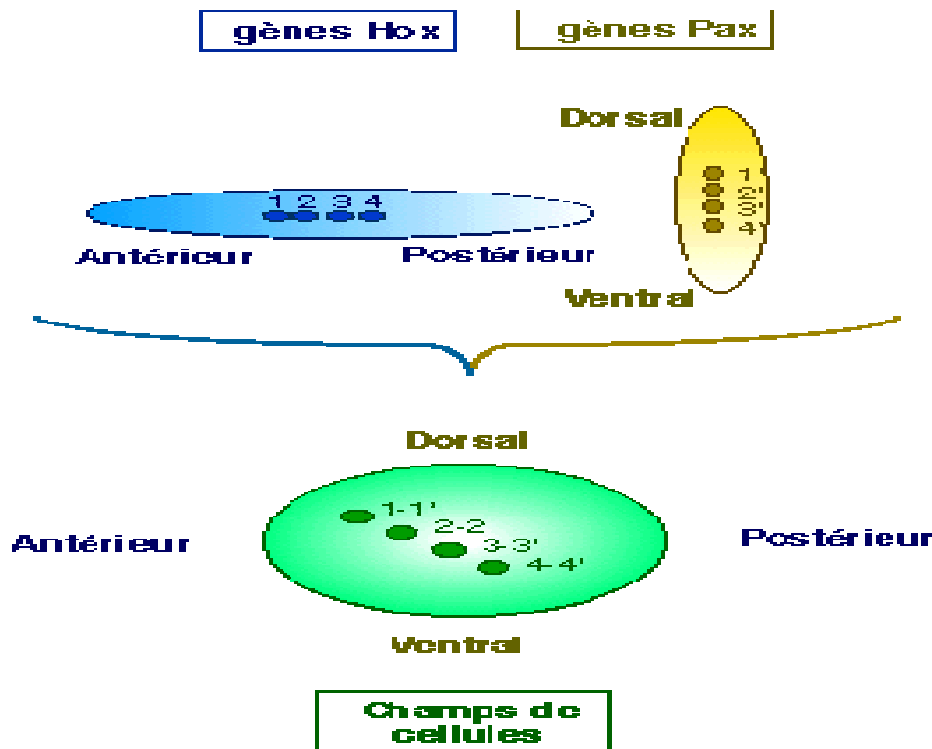


Figure :Le positionnement antéropostérieur et dorsoventral dans un champs de cellules est régulé par les gènes sélecteurs respectifs Hox(Hom-C) et Pax.

1-Le Complexe Hom-C de la drosophile

Appartenant au grand groupe des arthropodes, la drosophile est formée de segments qui se différencient au cours de la vie larvaire. Chaque segment acquiert une identité antéropostérieure définie par un complexe de gènes homéotiques: le code Hom-C homologue d'un seul complexe Hox des vertébrés.

L'étude de la transmission héréditaire des mutations homéotiques a ensuite permis de **localiser les gènes homéotiques** sur le chromosome 3 de la drosophile, deux groupes de gènes homéotiques : le complexe Antennapediale (pour la partie antérieure) et le complexe Bithorax (pour la partie postérieure).

Le **complexe Antennapedia** contient les gènes homéotiques : labial (lab), Antennapedia (Antp), Sex comb reduced (Scr), Deformed (Dfd) et proboscipedia (pb). Les gènes labial et deformed spécifient les segments céphaliques, tandis que Sex comb reduced et Antennapedia participent à l'établissement de l'identité des segments thoraciques. Le gène proboscipedia semble n'agir que dans les adultes ;

toutefois, en son absence, les palpes labiaux de la bouche sont transformés en pattes.

Le **complexe Bithorax** comporte trois gènes : le gène Ultrabithorax (ubx) qui est nécessaire à l'identité du troisième segment thoracique ; les gènes abdominal A (abdA) et abdominal B (abdB) qui sont responsables de l'identité segmentaire des segments abdominaux.

L'ordre des gènes forme le complexe suivant:

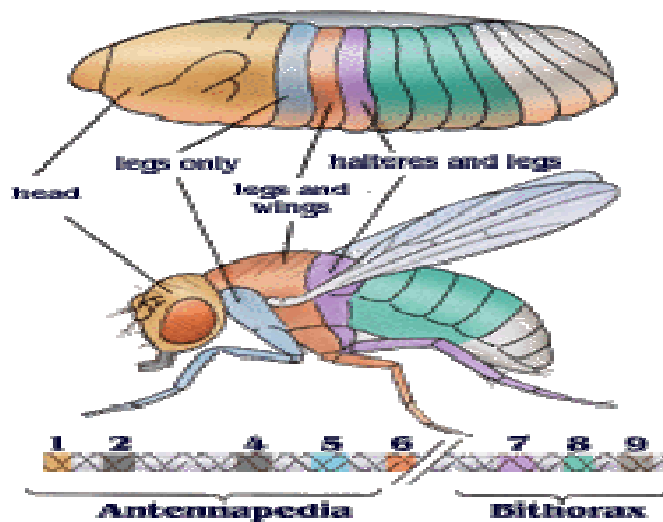
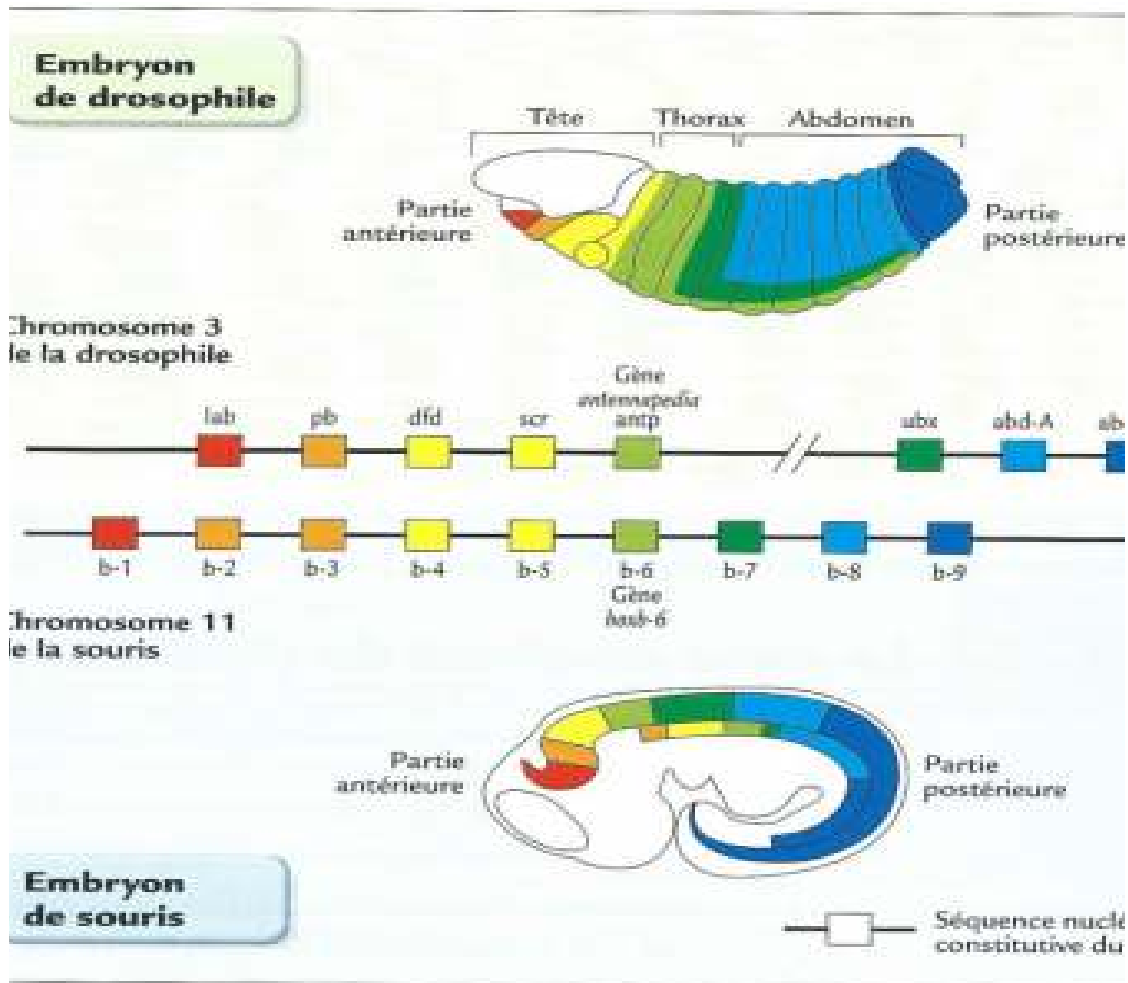


Figure. Complexe Hom-C de la drosophile. 1: Labial; 2: Proboscidea; 4: Deformed; 5: comb reduced; 6: Antennapedia; 7: Ultrabithorax; 8: Abdominal A; 9: Abdominal B.



2-Les gènes Hox

Impliquée dans l'identité cellulaire le long de l'axe antéropostérieur, l'expression des gènes Hox a été étudiée dans les organes embryonnaires axiaux des vertébrés tels que le tube neural et la colonne vertébrale. Chez les vertébrés, il existe quatre complexes homologues de gènes Hox. Chacun d'eux est porté par un chromosome différent. On considère que les quatre complexes Hox résultent de la duplication des chromosomes. Au cours de l'évolution, deux duplications successives ont eu lieu à partir d'un complexe ancestral. L'ordre de ces gènes sur chaque chromosome étant remarquablement similaire et étant issu par duplication, on dit qu'ils sont **paralogues**.

Chez les vertébrés, il existe 39 gènes HOX organisés en 4 complexes (HOXA, HOXB, HOXC, HOXD)

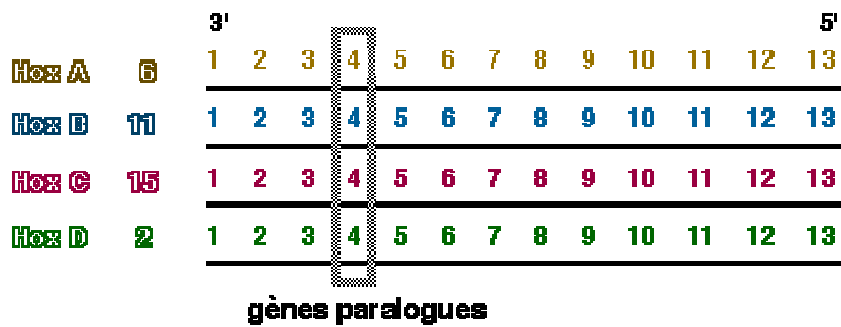


Figure. Organisation des quatre complexes de gènes Hox sur les quatre chromosomes 6, 11, 15, 2.


Il existe un rôle pathogène de mutations des gènes Hox dans des phénotypes malformatifs sévères chez l'homme et chez la souris. Plusieurs études ont démontré que les gènes Hox, particulièrement ceux des complexes A et D, sont impliqués dans des anomalies des extrémités, en regard notamment des malformations importantes des pattes obtenues dans les modèles murins par mutagenèse dirigée. Le gène HOXD13 a été impliqué dans la synpolydactylie (syndactylie type II) chez l'homme par un mécanisme de gain de fonction avec expansion d'une polyalanine dans la région amino-terminale du gène en dehors de l'homéodomaine. La synpolydactylie est une affection dominante caractérisée chez les hétérozygotes par des syndactylies III/IV des doigts et IV/IV des orteils avec la duplication d'un rayon dans la syndactylie membraneuse. Le phénotype homozygote est plus sévère et associe la transformation de métacarpes et de métatarses en os courts du carpe et du tarse. L'expansion de polyalanine se situe généralement entre 7 et 14 résidus ; des expansions plus grandes semblent produire un phénotype plus sévère.

Des gènes qui déterminent le nombre de pattes

Chez les vertébrés **tétrapodes** possédant des membres, il existe plusieurs types de vertèbres. Alors que les vertèbres thoraciques portent des côtes, les vertèbres cervicales et lombaires en sont dépourvues (tout comme les vertèbres caudales pour les animaux possédant une queue).

Les serpents sont caractérisés, quant à eux, non seulement par l'absence de pattes, mais aussi par la présence de côtes sur toute la longueur de la colonne vertébrale (*photographie ci-contre*).

Radiographie d'un serpent (crotale) ▶
mettant en évidence son squelette

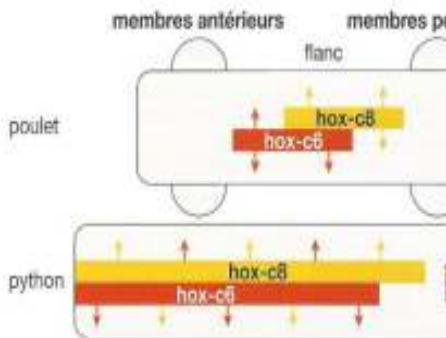


Chez les vertébrés possédant des membres, comme le poulet, ceux-ci se développent en avant et en arrière d'une zone délimitée par l'expression des gènes Hox-c6 et Hox-c8.

Chez les serpents, la zone d'expression de ces deux gènes est très étendue vers l'avant, expliquant l'absence de membres antérieurs ainsi que l'extension des vertèbres thoraciques.

Remarque : l'absence des membres postérieurs implique d'autres gènes du développement, non présentés ici.

Comparaison de l'expression de deux gènes Hox et le python



Gènes homéotiques et absence de pattes chez les serpents.

2.1.-Notion de combinatoire génique

La combinaison des produits de plusieurs gènes Hox donne **une identité relative** aux cellules embryonnaires le long de l'axe antéro-postérieur. Chaque cellule embryonnaire est donc affectée d'une **valeur positionnelle** au sein de la population cellulaire où elle se trouve, valeur qui résulte d'une **combinatoire** de plusieurs gènes appartenant au code Hox.

2.2.-Notion de colinéarité

Une deuxième notion importante apportée par la connaissance des gènes Hox concerne la **colinéarité** de la disposition des gènes Hox sur le chromosome avec l'ordre des domaines d'expression dans l'embryon. **Ils ont une expression spatio-temporelle colinéaire du développement de l'axe antéro-postérieur** de l'embryon

Par exemple, le gène à l'extrémité 3' du complexe est exprimé en premier et participe à l'élaboration des structures antérieures. Le gène à l'extrémité 5' du complexe est exprimé en dernier et participe à l'élaboration des structures postérieures.

2.3.-Positionnement et identité cellulaire.

L'association de ces deux notions, combinatoire et colinéarité, renforce la précision de l'identité et du positionnement des cellules embryonnaires. C'est de cette façon que sont définies les différentes régions de l'embryon. Un modèle schématique permet de représenter ces notions clefs que sont les propriétés des gènes Hox. Considérons trois gènes 1, 2 et 3 ordonnés sur un chromosome. Ces gènes s'expriment dans le même ordre le long de l'axe antéropostérieur du tronc de l'embryon. Le domaine d'expression du gène 1 s'étend tout le long de l'axe antéropostérieur. Le gène 2 s'exprime plus postérieurement par rapport au gène 1. Le gène 3 s'exprime encore plus postérieurement par rapport au gène 2. Ainsi, la combinaison des domaines d'expression de ces trois gènes définissent trois régions distinctes au sein de l'embryon, soit respectivement les régions 1, 1+2 et 1+2+3.

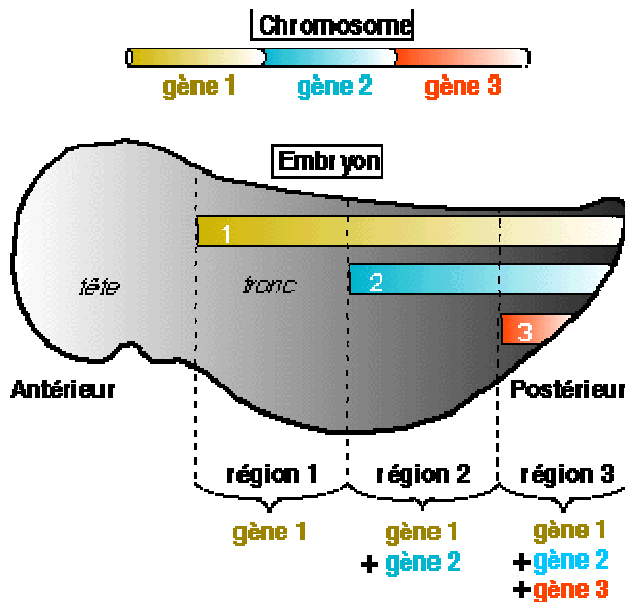


Figure : Positionnement et identité cellulaire

3-Les gènes Pax

Impliquée dans l'identité cellulaire le long de l'axe dorsoventral, l'expression des gènes Pax a été étudiée dans les organes embryonnaires dorsaux et latérodorsaux des vertébrés tels que le tube neural et les somites.

3.1-Dans le tube neural

Le tube neural est l'organe embryonnaire en position la plus dorsale à l'origine du système nerveux central (cerveau et moëlle épinière).

Avant même que le tube neural ne montre quelque signe de différenciation que ce soit, la future moëlle épinière se subdivise en régions dorsale et ventrale. Ces régions se distinguent par l'expression différentielle des gènes Pax. Par exemple, les gènes Pax 3 et Pax 7 marquent spécifiquement la région dorsale du tube nerveux et sont exclus de sa région ventrale.

3.2-Dans les somites

Les somites sont des organes embryonnaires transitoires qui se différencient ultérieurement en trois catégories de dérivés. Les cellules somitiques localisées dans la région dorsale et latérale sont à l'origine du dermomyotome (destiné à former le derme du tronc et les muscles de la colonne vertébrale). Ces cellules expriment le gène Pax3. Par contre, la partie ventrale du somite est à l'origine du sclérotome (destiné à former les vertèbres). Ces cellules expriment Pax1.

3.3-Positionnement et identité cellulaire

La régionalisation des domaines d'expression des gènes Pax résulte d'une cascade d'événements génétiques qui visent à ségréger leur mise en fonction le long de l'axe dorsoventral des somites et du tube neural.

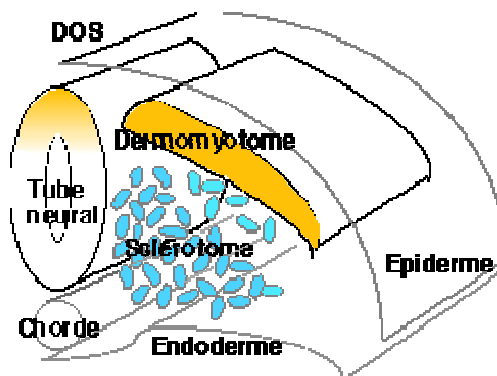


Figure. Expression régionalisée des gènes Pax exprimés dans le tube neural ainsi que les somites de l'embryon de poulet. En jaune et en bleu sont représentées respectivement l'expression de Pax3et Pax1.

Ainsi, comme dans le cas des gènes Hox le long de l'axe antéropostérieur, le rôle des gènes Pax est d'informer les cellules de leur position au cours de l'embryogenèse et de préciser leur positionnement définitif dans l'embryon au cours de la formation des organes par rapport à l'axe dorsoventral

En se fondant sur les homologues de séquence, on peut distinguer quatre classes parmi les neuf membres de la famille *Pax*: *Pax3/7*, *Pax4/6*, *Pax1/9* et finalement *Pax2/5/8*. Cette conservation de séquence confère aux membres d'une même classe une activité fonctionnelle largement **redondante**. Ces facteurs de transcription reconnaissent effectivement la même séquence consensus de liaison à l'ADN et peuvent se substituer l'un à l'autre *in vivo*. De plus, chacun de ces gènes possède un profil d'expression unique bien que, dans une même classe, les profils se chevauchent largement. En conséquence, lorsqu'un gène *Pax* est inactivé, le phénotype majeur s'exprimera dans les régions où aucun autre membre de son sous-groupe n'est co-exprimé. C'est le cas par exemple de souris mutantes pour *Pax8*, chez lesquelles on observe des anomalies sévères de la thyroïde, alors que la formation des reins n'est pas affectée, malgré l'expression de *Pax8* dans ces deux tissus.

C'est en tenant compte de cette redondance fonctionnelle entre protéines Pax d'une même classe que nous avons récemment mis en évidence une fonction importante pour *Pax8* dans le processus de formation du rein. Trois ébauches successives de reins se succèdent durant le développement embryonnaire: le pronéphros, le mésonéphros et finalement le métanéphros ou rein adulte. Les deux premières, malgré leur existence transitoire, n'en sont pas moins essentielles au développement normal du rein adulte puisque chacune de ces structures émerge de la précédente. C'est donc l'induction du pronéphros, le premier des reins embryonnaires, qui signe le début du développement rénal. On sait depuis quelques années que le gène *Pax2* est nécessaire à la formation du métanéphros (rein adulte). Chez les embryons *Pax2*^{-/-}, dépourvus de métanéphros, il y a formation du pronéphros et du mésonéphros. Étant donné la redondance fonctionnelle des gènes *Pax*, il apparaît probable que *Pax8*, l'autre membre de la famille *Pax2/5/8* exprimé dans le rein, puisse compenser l'absence de *Pax2* à ces stades les plus précoces du développement rénal. Nous avons en effet pu montrer que: (1) *Pax8* est le marqueur le plus précoce de l'ébauche rénale; (2) qu'il est co-exprimé avec *Pax2*, et ce avant même la formation du pronéphros; et (3) que l'expression des deux gènes est contrôlée de façon indépendante dans cette région. Dans ces circonstances, on peut s'attendre à ce que l'inactivation simultanée de *Pax2* et de *Pax8* entraîne un

phénotype rénal précoce et sévère. Cette prédiction s'est révélée exacte au point même d'abolir l'établissement de la lignée néphrique chez les embryons ayant une inactivation des gènes *Pax2* et *Pax8*. En effet, ces embryons sont incapables d'induire la transition mésoderme-épithélium nécessaire à la formation du canal néphrique, la structure de base du pronéphros et les marqueurs moléculaires précoces de la lignée néphrogénique sont absents. C'est à dire que *Pax2* et *Pax8* sont absolument nécessaires à l'acquisition, par des cellules du feuillet mésodermique, d'une identité néphrogénique.

Développement embryonnaire du rein.

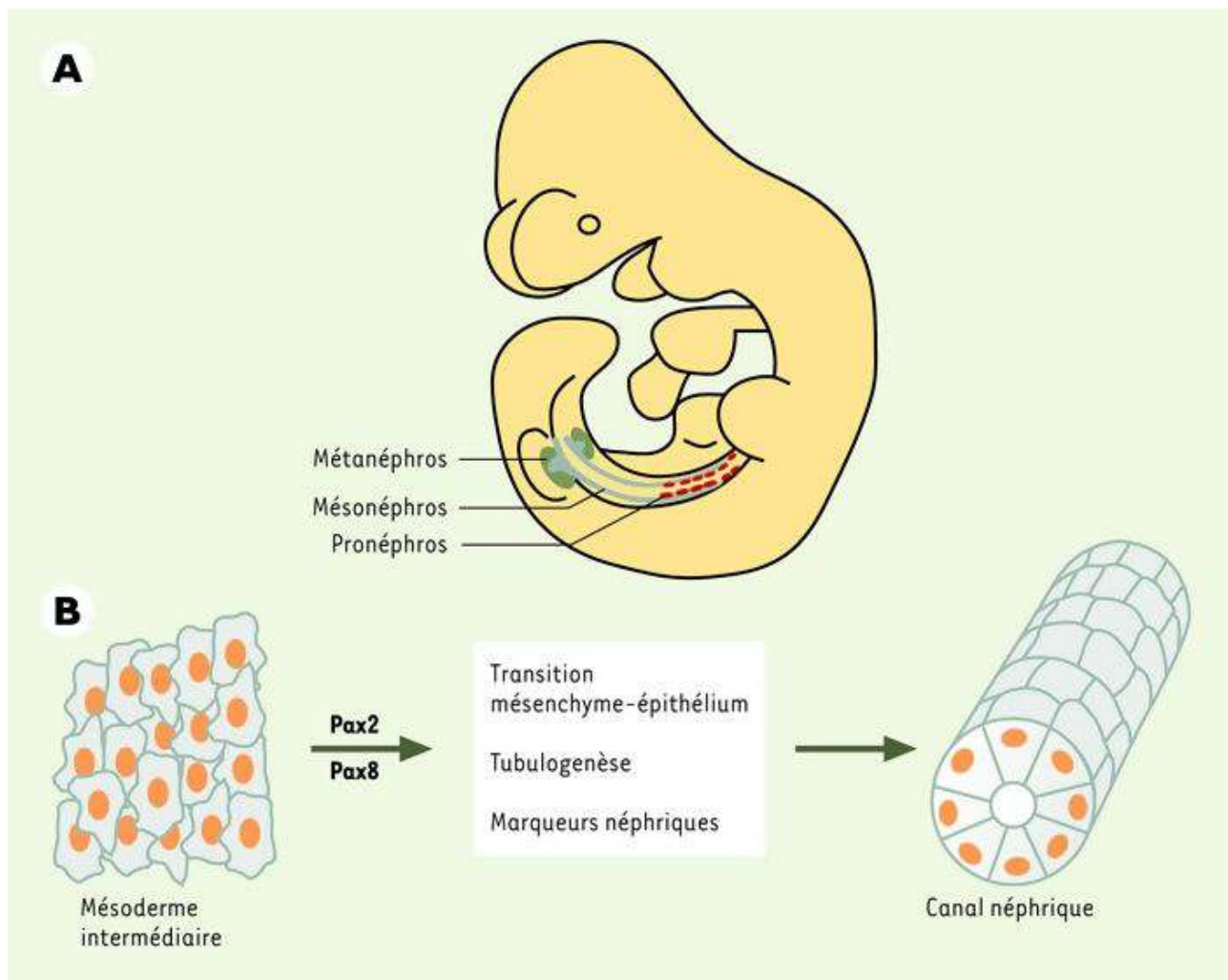


Figure :A. Chez les vertébrés, le développement du système néphrogénique se fait en trois phases: le pronéphros, le mésonephros et le métanéphros. Ce dernier est conservé chez l'adulte alors que les deux formes transitoires se métamorphosent en composantes du système génital. Chaque stade se forme à partir du précédent, de sorte que le développement rénal débute par l'induction du pronéphros. Le canal néphrique est représenté en bleu. B. Les facteurs de transcription *Pax2* et *Pax8* sont nécessaires et suffisants pour induire un destin néphrique dans les cellules du mésoderme intermédiaire qui formeront le pronéphros.

Si *Pax2* et *Pax8* sont effectivement les déterminants de la lignée néphrique, on peut penser que leur

expression à l'extérieur de l'ébauche rénale soit capable d'y induire cette identité cellulaire. De fait, l'infection d'embryons de poulet avec un virus exprimant le gène *Pax2* entraîne l'apparition de canaux néphriques (de type pronéphros) dans la région qui devrait normalement former les gonades. Nous apportons bien la preuve expérimentale qu'ensemble *Pax2* et *Pax8* remplissent les critères nécessaires et suffisants pour justifier leur qualificatif de « clé moléculaire »: nécessaires à la spécification de la lignée néphrogénique et suffisants pour l'induire hors de sa localisation anatomique normale.

L'action de *Pax2* et *Pax8* dans la lignée néphrogénique n'est pas le seul exemple de spécification cellulaire par les gènes *Pax*. Le rôle de *Pax5* dans la détermination des progéniteurs hématopoïétiques lymphoïdes vers la lignée lymphocytaire B est ainsi très bien caractérisé. Ici aussi, l'absence du gène *Pax5* bloque complètement la différenciation de cette lignée cellulaire, alors que son expression constitutive dans les cellules souches du système hématopoïétique est suffisante pour engager les progéniteurs lymphoïdes vers un destin de lymphocytes B, aux dépens d'autres lignées cellulaires. De même, on sait que *Pax7* est nécessaire à la spécification des cellules satellites des muscles, *Pax8* à la spécification des cellules folliculaires de la thyroïde, *Pax4* à la formation des cellules β du pancréas (productrices d'insuline), alors que *Pax6* est nécessaire aux cellules α du même organe (productrices de glucagon). Bien qu'il n'y ait pas encore de preuve expérimentale directe que l'expression de ces protéines *Pax4*, *6*, *7* soit suffisante pour la spécification tissulaire, tout porte à croire que leur mode d'action est similaire à celui de *Pax2/8* dans le rein ou de *Pax5* dans le système immunitaire.

Déterminer le mécanisme de spécification de nouvelles identités cellulaires est essentiel à la compréhension du développement embryonnaire. Il est fascinant de constater que, dans le cas de *Pax*, plusieurs des membres d'une même famille de gènes partagent cette fonction d'induction de spécification cellulaire, mais que les réponses sont extrêmement diverses selon le contexte. On peut penser que certains mécanismes d'action des *Pax* sont restreints à telle ou telle lignée, alors que d'autres sont plus généraux. À titre d'exemple, une des conclusions des études de la fonction de *Pax5* dans le système immunitaire est que la spécification cellulaire se fait en grande partie par répression des destins cellulaires alternatifs, notamment myéloïde et lymphocytaire T.