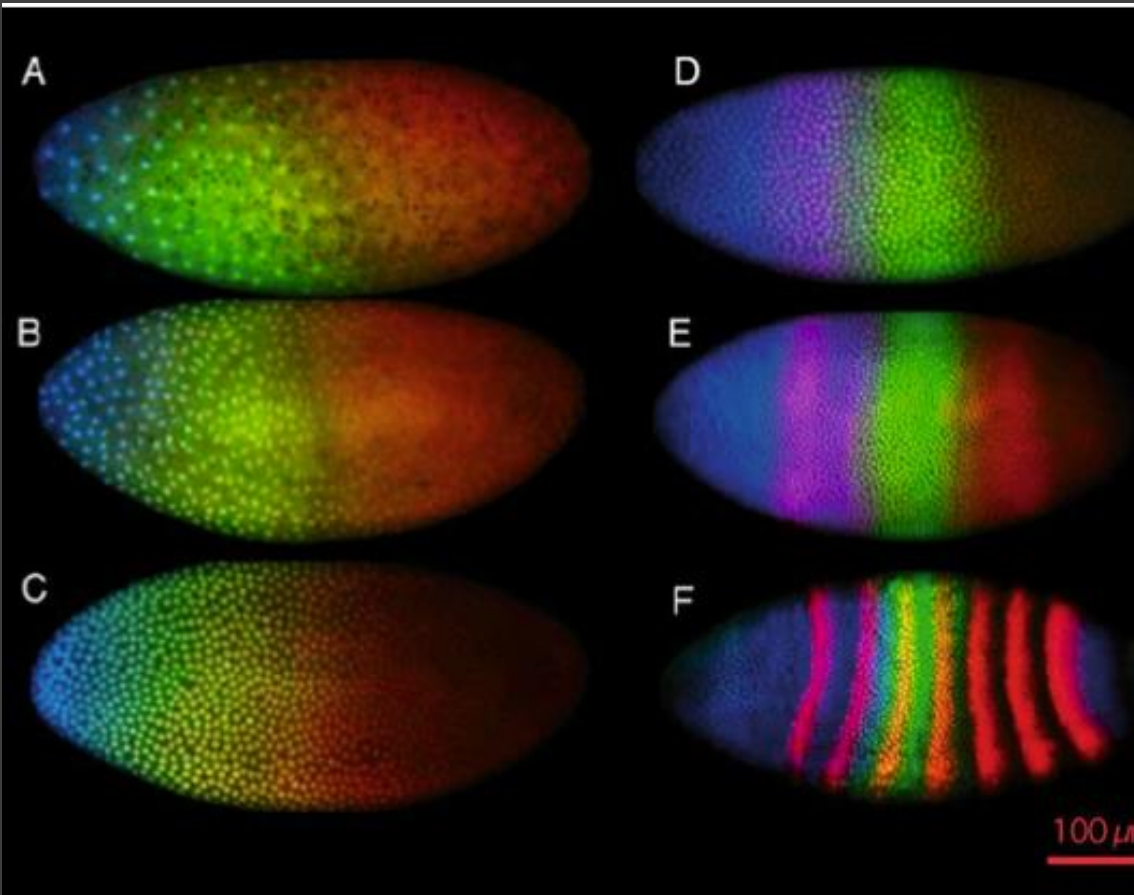




L3

BIOLOGIE DU DEVELOPPEMENT
Laurent Théodore 2025

COURS 3

PROGRAMMES DE DEVELOPPEMENT

- Développement embryonnaire: stereotype
- Gènes à effet maternel
- Gènes à effet zygotique

Modèle:

Segmentation
 chez la drosophile

université
 PARIS-SACLAY

Trois groupes de genes zygotiques sont nécessaires pour la segmentation

- Gènes Gap: Fonction requise pour la présence d'un grand domaine de l'axe AP
- Gènes pair rule: Fonction requise dans un segment sur deux
- Gènes de polarité segmentaire: Fonction requise dans tous les segments, pour différencier une sous-région de chaque segment

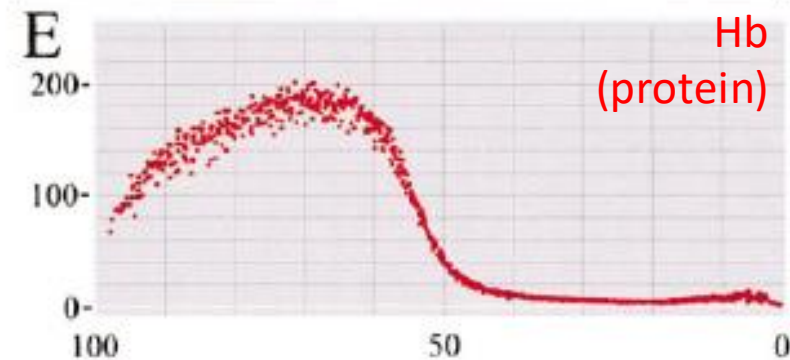
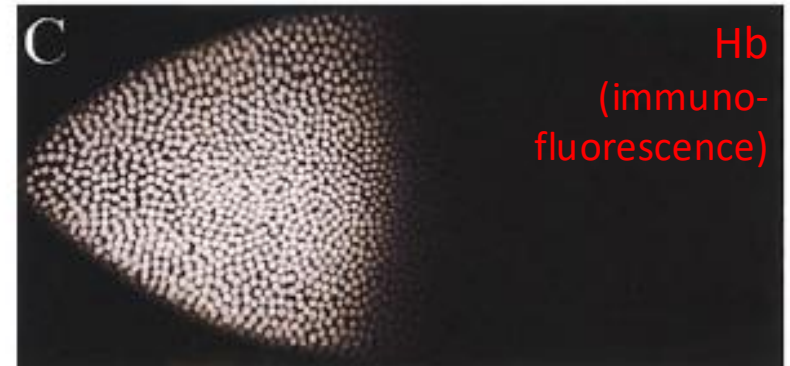
Trois groupes de genes
zygotiques sont nécessaires
pour la segmentation

Quel mode d'action?

Expression des gènes de segmentation

Exemple gène GAP

hunchback



Expression des gènes de segmentation

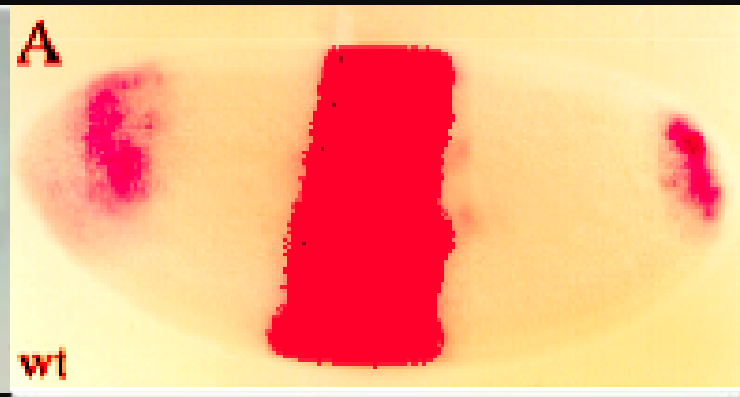
Ex: pair rule

even-skipped : eve



eve mRNA

Ex: gène GAP



Kr mRNA

Expression des gènes de segmentation

Gène de polarité segmentaire

Ex: *engrailed*



5-hour embryo

100 μ m



10-hour embryo

100 μ m



adult

500 μ m

Expression des gènes de segmentation

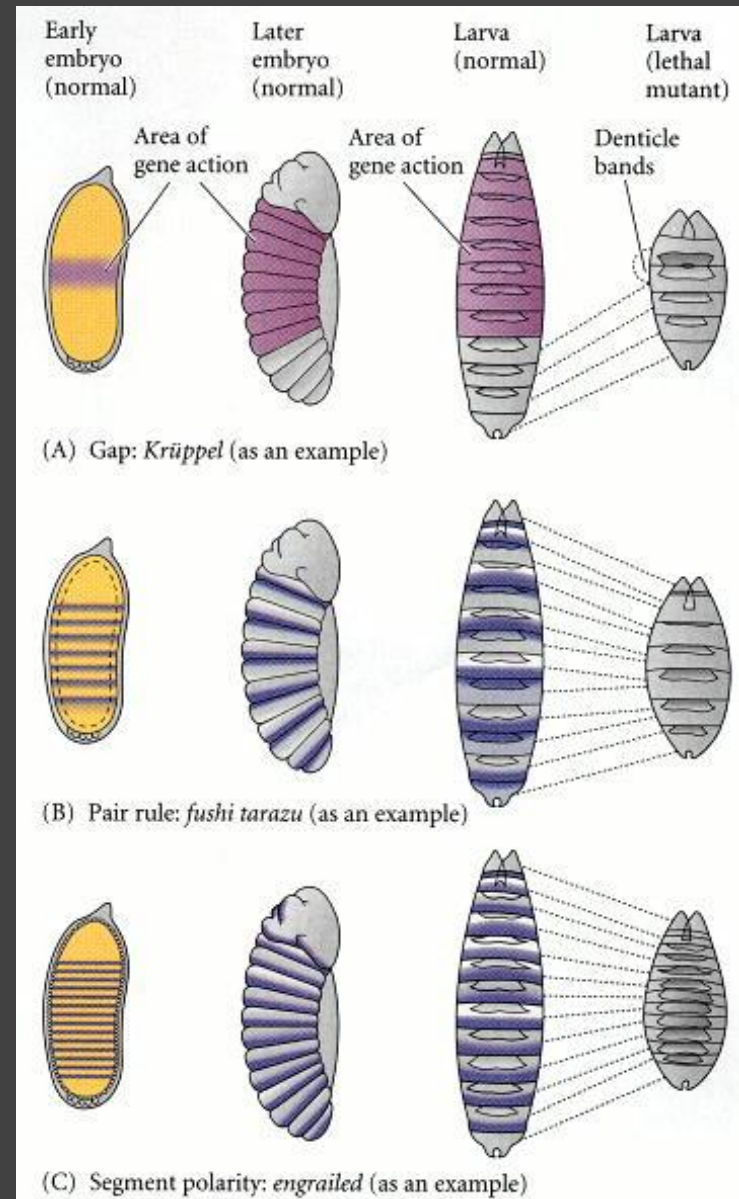
Exemples
engrailed



Profils d'expression régionalisés

<=>

domaines où
la fonction de
ces gènes est
requise



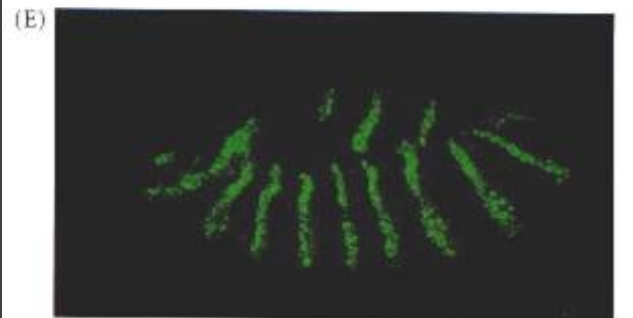
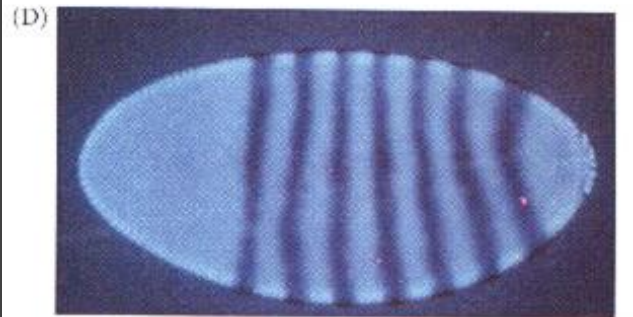
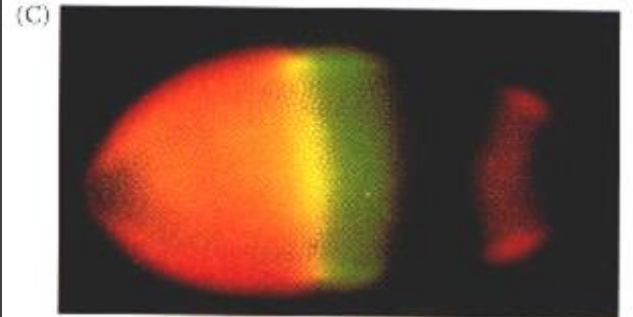
Résumé

Maternal
Gradient
=> polarité AP

Gap
=> Régionalisation

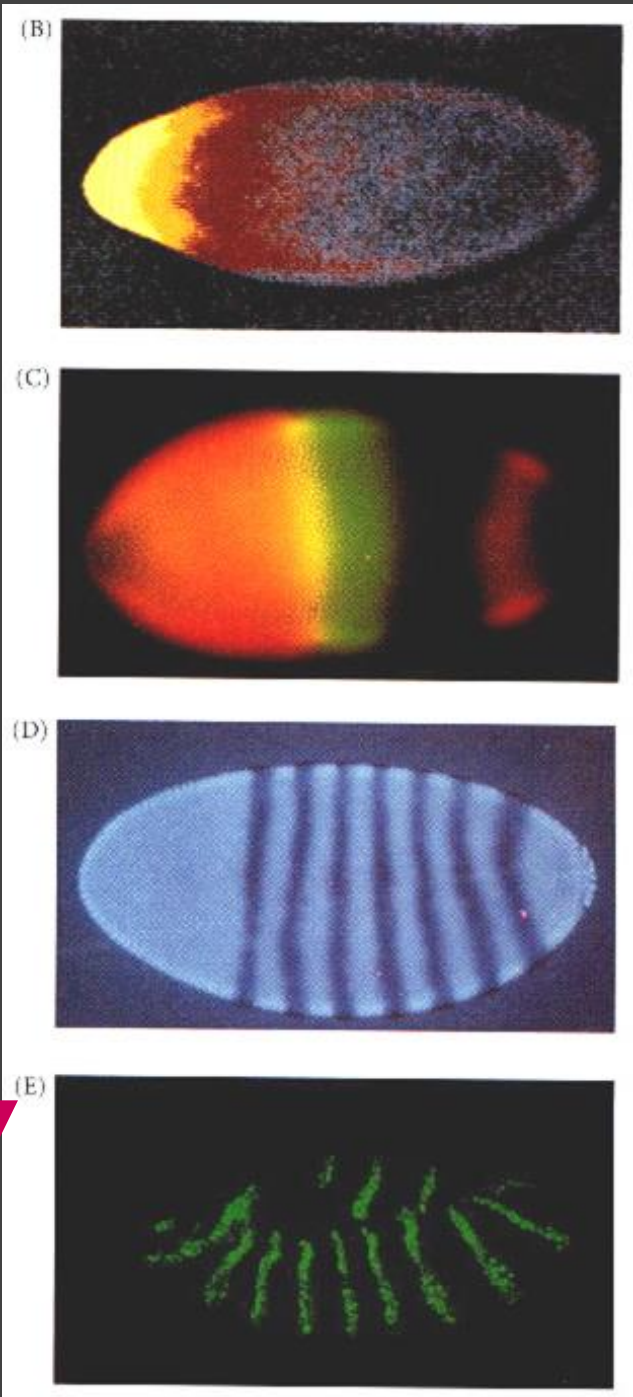
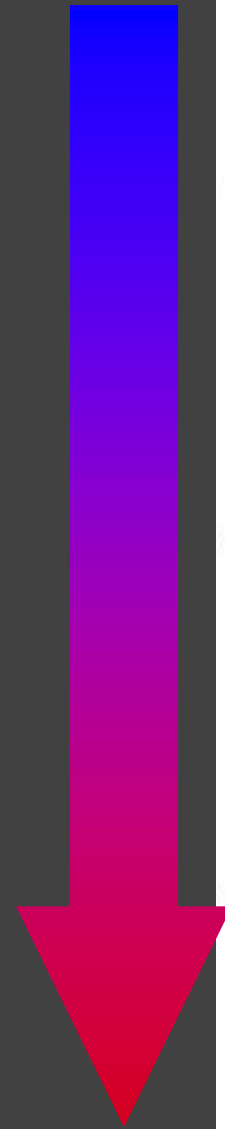
Pair rule
=> Périodicité

Polarité segmentaire
=> Matérialisation de la
segmentation



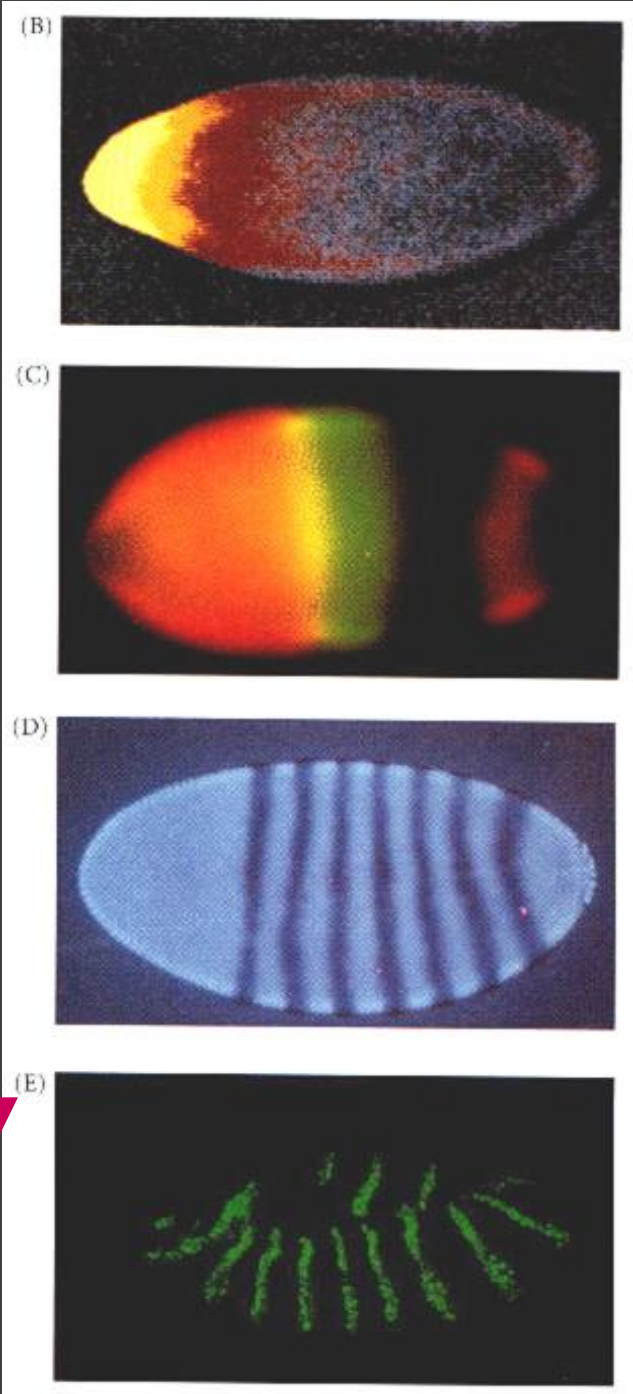
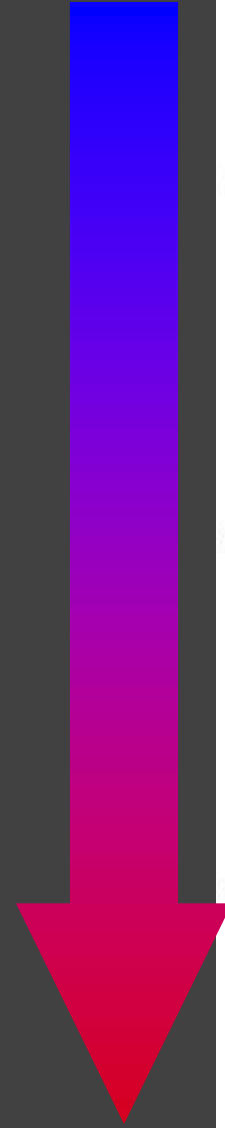
*Une segmentation
moléculaire, progressive,
précède la segmentation
anatomique*

- Gradient
- Région
- Périodicité
- Segmentation



Hiérarchie entre ces gènes ?

- Gradient
- Région
- Périodicité
- Segmentation



Gènes de segmentation



Programme de développement
⇔ Enchaînement de fonctions
Chaque fonction peut être
définie par au moins un gène



Comment ces fonctions
s'organisent-elles les unes par
rapport aux autres?

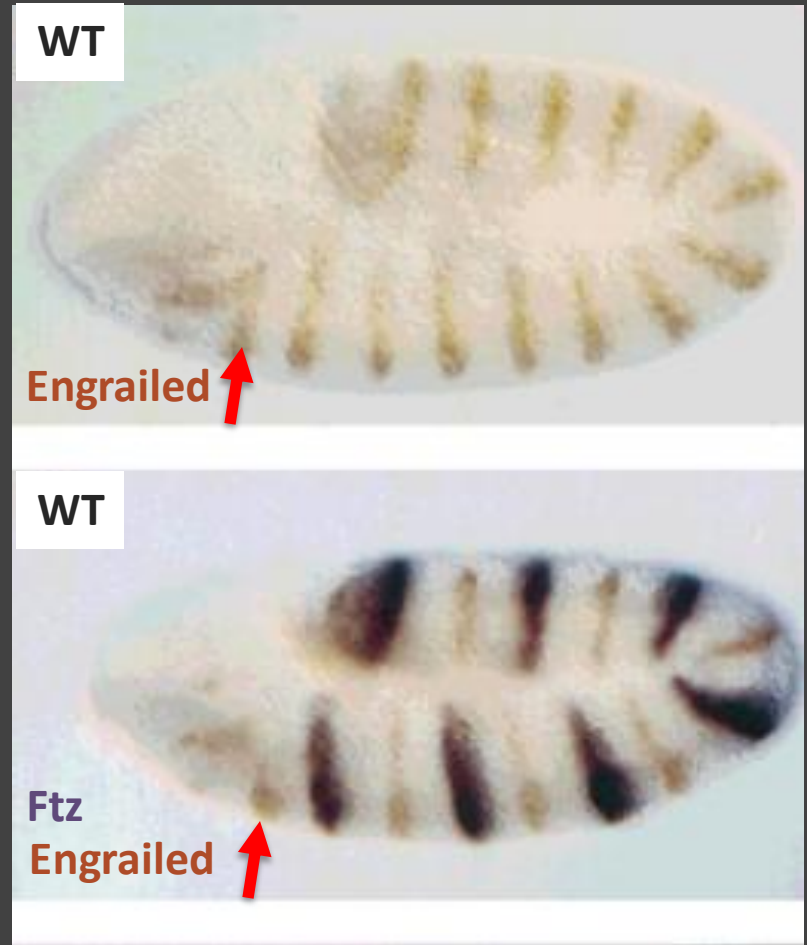


Méthode?

Méthode:

1) Comparaison des profils d'expression

Exemple: Interaction entre les gènes *pair rule* et *polarité segmentaire*

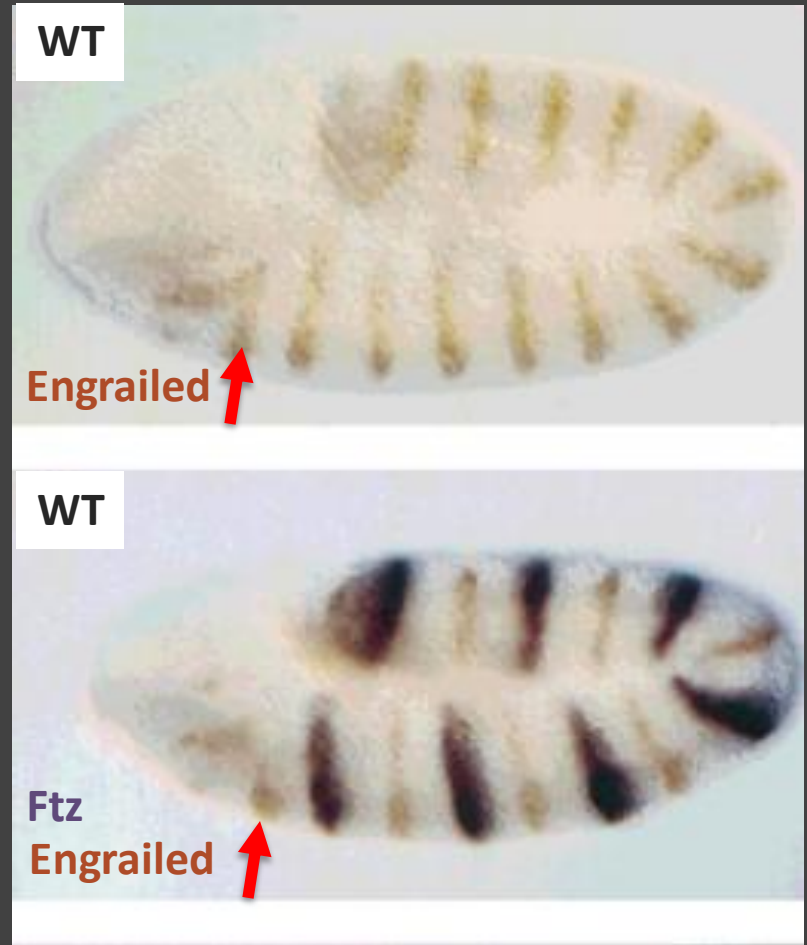


Flèche rouge: point de repère
= premier métamère

Méthode:

1) Comparaison des profils d'expression

- Contexte sauvage:
14 bandes d'expression Engrailed
(dans la partie antérieure des parasegments)
dont 7 colocalisent avec les 7 bandes Ftz

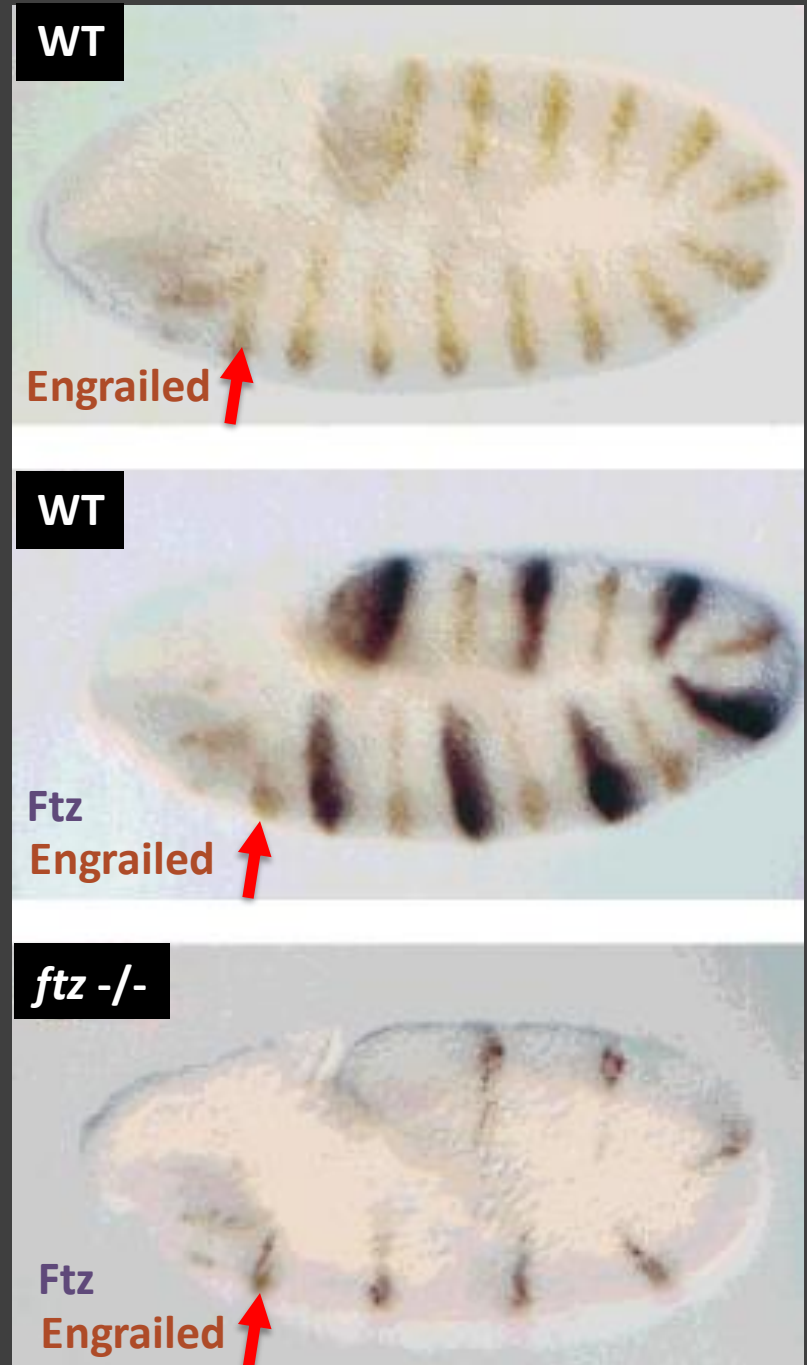


=> Hypothèse(s) sur
régulation *en/ftz* ?

Méthode:
2) Test d'interaction
génétique

Observation:

En contexte mutant (LOF)
pour *ftz*, l'expression de
engrailed disparaît dans les
bandes paires

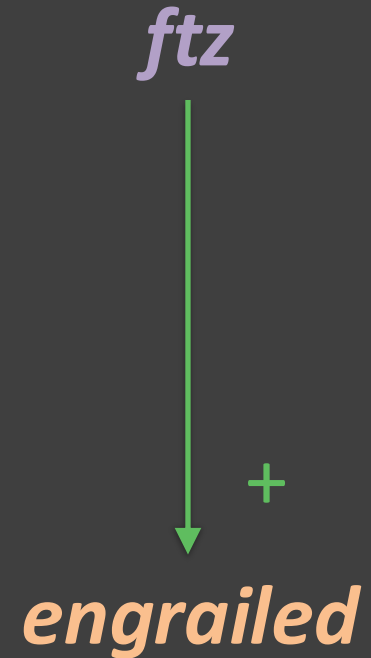


Méthode

3) Formulation du résultat

Le gène *ftz* agit comme activateur en amont d'*engrailed*.

La fonction de *ftz* est nécessaire pour l'activation de *engrailed*.



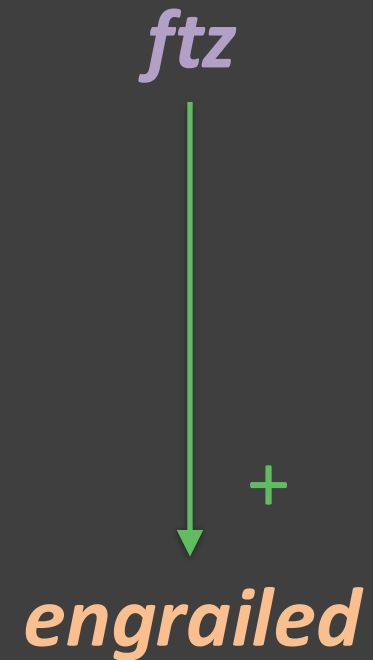
=> **Ordonner les fonctions:** amont / aval / parallèle

=> **Orienter les interactions** activation / répression

Méthode

3) Formulation du résultat

la fonction de *ftz* est nécessaire pour l'activation de *engrailed* **dans les bandes paires.**



=> **Ordonner les fonctions:**

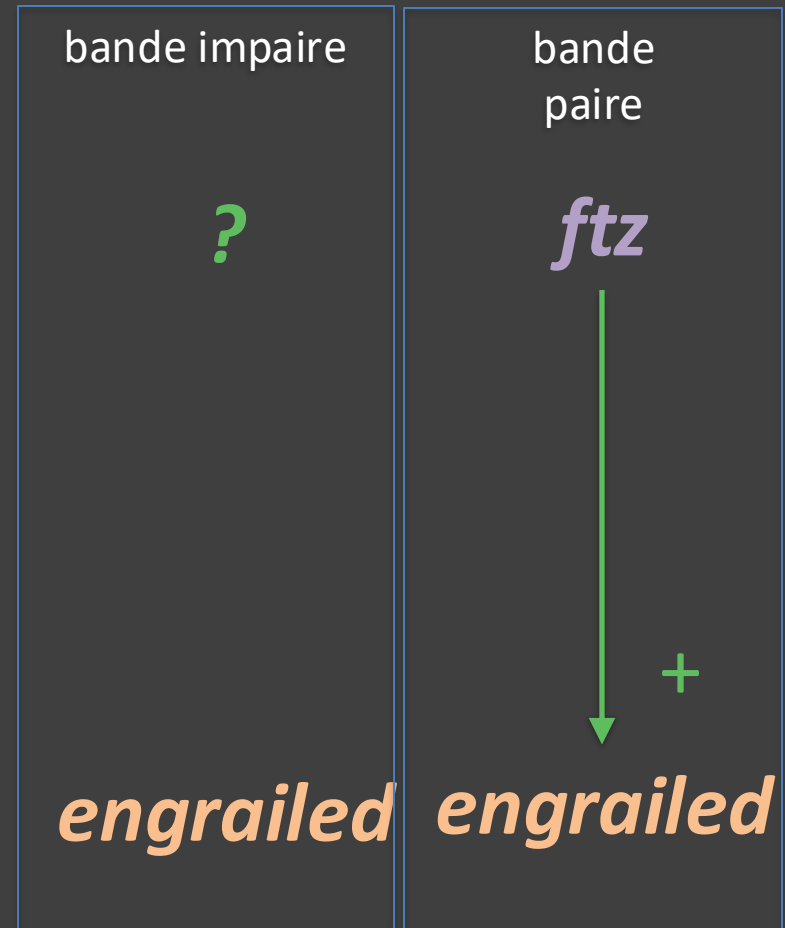
amont / aval / parallèle

=> **Orienter les interactions**

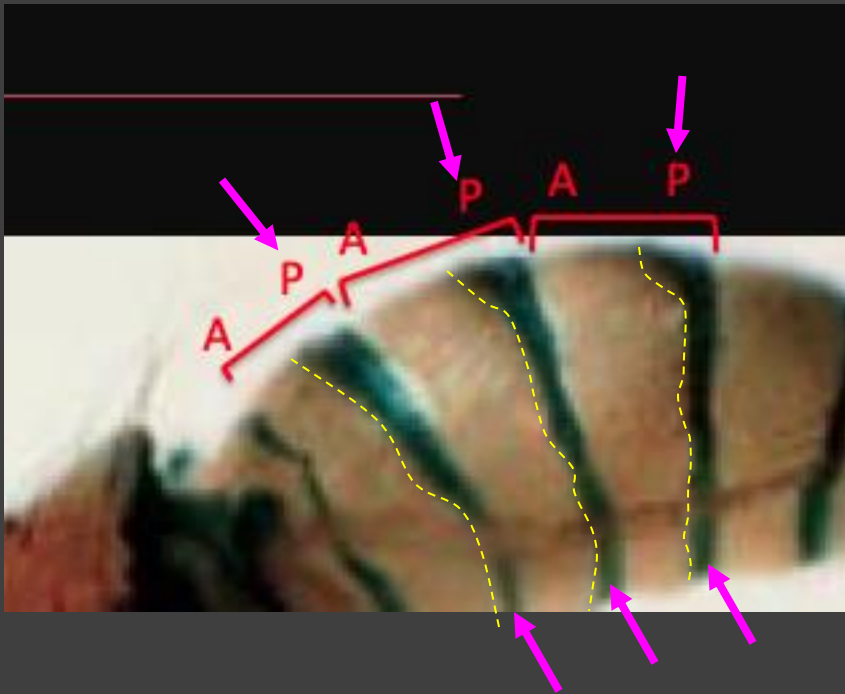
activation / répression

Méthode

3) Formulation du résultat



- => Ordonner les fonctions: amont / aval / parallèle
- => Orienter les interactions activation / répression
- => Préciser dans quel espace



bande impaire

?

engrailed

bande
paire

ftz

+

engrailed

=> Ordonner les fonctions:

=> Orienter les interactions

=> Préciser dans quel espace

amont / aval / parallèle

activation / répression

ex: dans quel(s) métamère(s)

Segment impair

PS postérieur
pair

PS antérieur
impair

X?



+

engrailed

Segment pair

PS postérieur
impair

PS antérieur
pair

ftz



+

engrailed

=> Ordonner les fonctions:

amont / aval / parallèle

=> Orienter les interactions

activation / répression

=> Préciser dans quel espace

et quel sous domaine

Segment impair

PS postérieur
pair

PS antérieur
impair

X?



+

engrailed

Segment pair

PS postérieur
impair

PS antérieur
pair

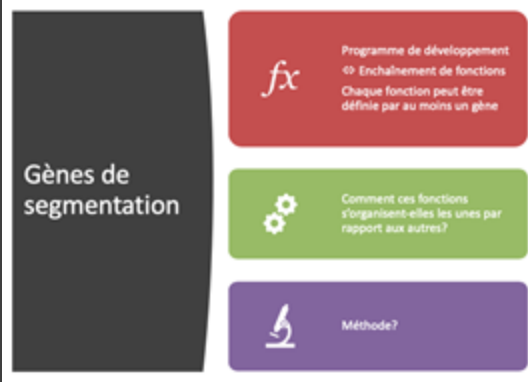
ftz



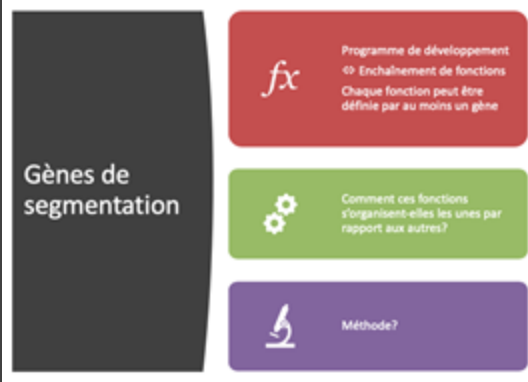
+

engrailed

Le gène *ftz* agit en amont de *engrailed* . *ftz* est nécessaire pour activer *engrailed* dans les régions antérieures des parasegments impairs (ou régions postérieures des segments pairs)



=> Construire un réseau de régulation incluant les gènes maternels et zygotiques impliqués dans la segmentation



=> Construire un réseau de regulation incluant les gènes maternels et zygotiques impliqués dans la segmentation

- 1) Interaction entre gènes Pair rule et Polarité segmentaire
- 2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap:

=> cf TD 3

- 1) Définition des frontières antéropostérieures des domaines Gap
- 2) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe
- 3) Régulation des gènes de polarité segmentaire



1) Interactions génétiques entre gènes *Pair rule* et gènes de polarité segmentaire

- Les gènes *Pair rule* agissent en amont des gènes de polarité segmentaire
- Ils peuvent jouer un rôle activateur ou répresseur suivant le gène de polarité segmentaire cible considéré



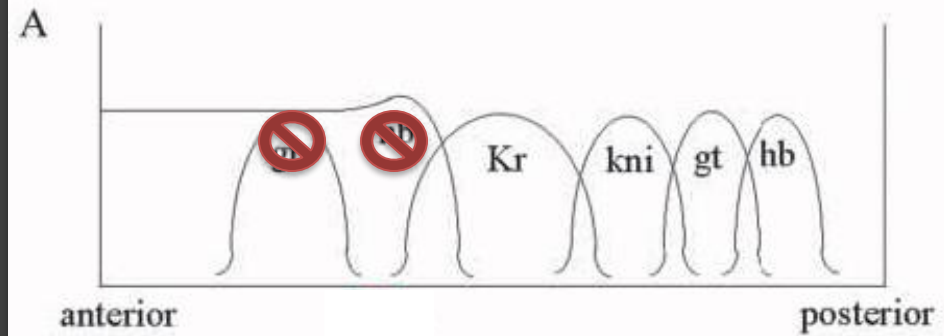
2) Interactions génétiques entre gènes maternels et gènes zygotiques *bicoid* et les gènes Gap

Vu au TD 3: *bicoid* agit en amont de *hunchback*, *giant*, et *Krüppel*.

=> Comment le caractère de morphogène se traduit-il à l'échelle génétique?

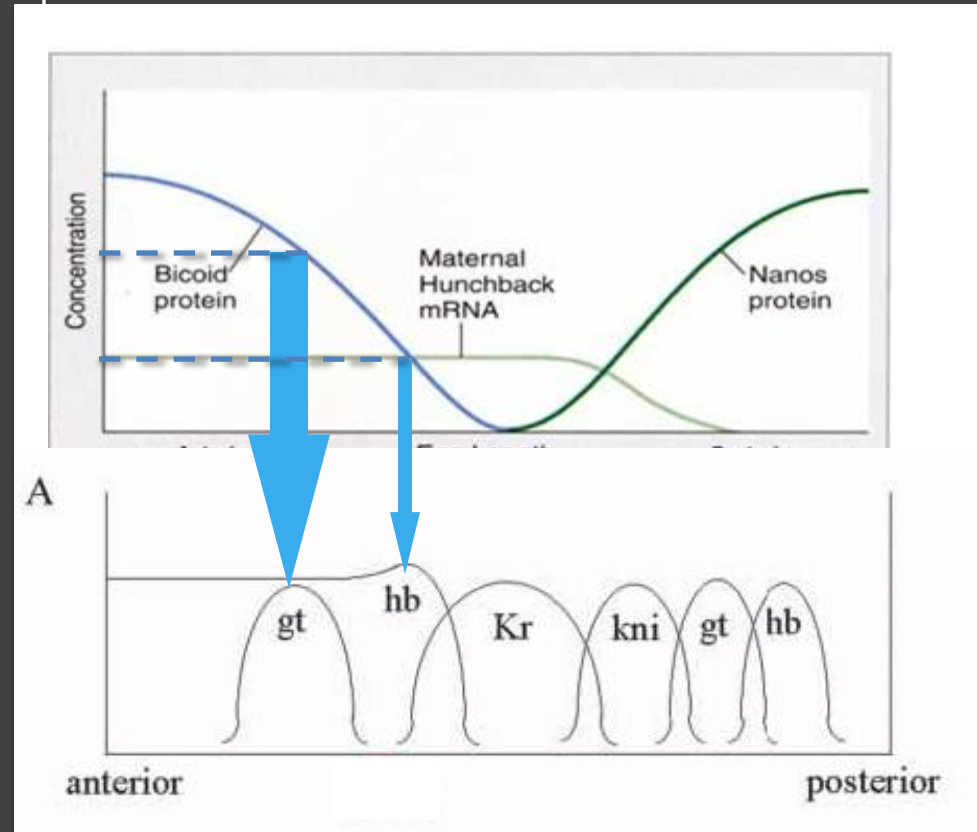
2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap

- Dans un embryon *bicoid*^{-/-} (maternel)
hb et *giant* pas activés
 => contrôle maternel des gènes Gap par *bcd*



2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap

- Dans un embryon *bicoid*^{-/-} (maternel)
 - hb* et *giant* pas activés
 - => contrôle maternel des gènes Gap par *bcd*
 - Bicoid a un effet dose/réponse par pallier: « morphogène »
- En fonction de la dose de Bicoid
- | | |
|---------|---------------------|
| Élevée | => <i>giant</i> |
| moyenne | => <i>hunchback</i> |
- => Comment?





2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap

- Bicoid est une protéine nucléaire
- Se lie à l'ADN de façon séquence-spécifique
- Ces sites sont présents dans les CRE des gènes *giant* et *hunchback* et nécessaires pour l'activation de la transcription de ces deux gènes
- Mais tous les sites de liaison de Bicoid à l'ADN n'ont pas la même affinité pour ce facteur

=> Modélisation de l'effet morphogène sur la transcription des gènes cibles de Bicoid



Bcd

Bcd protein

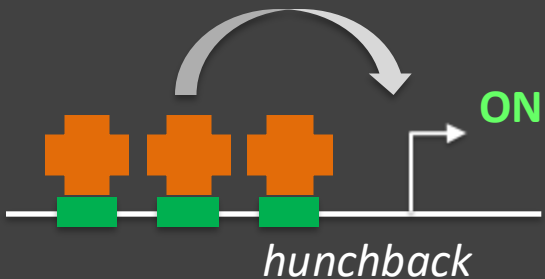
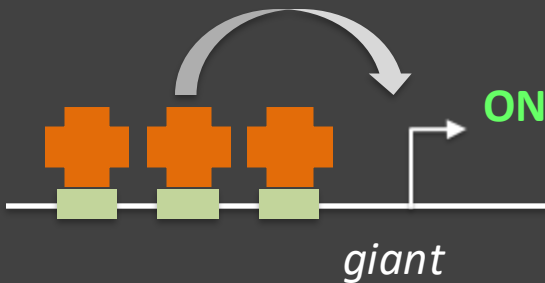


Low affinity Bcd binding site

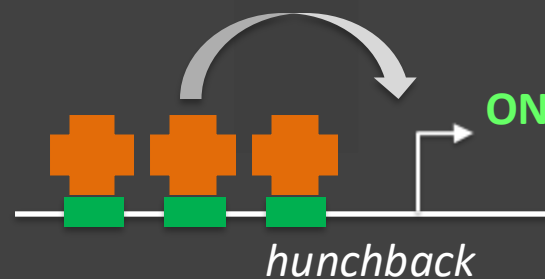
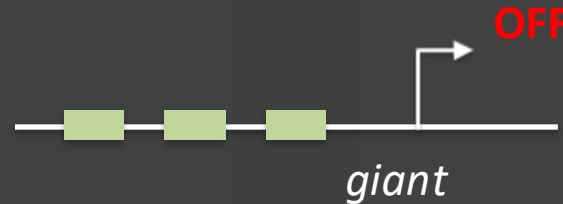


High affinity Bcd binding site

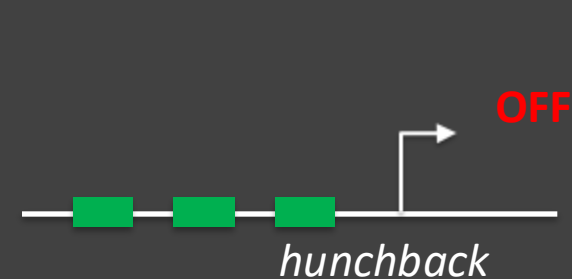
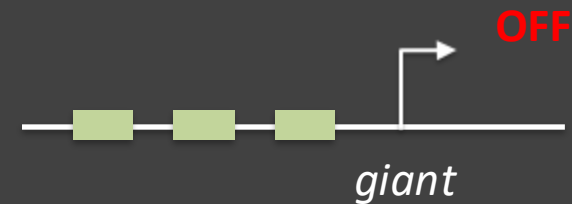
[Bcd] élevée



[Bcd] faible



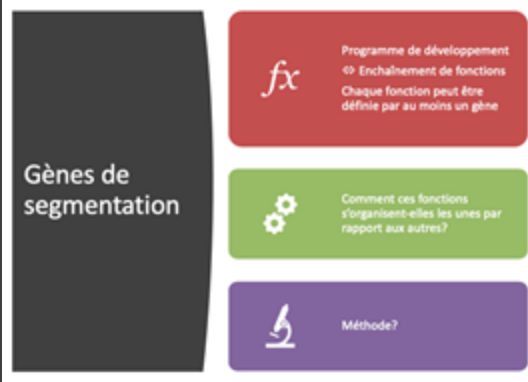
[Bcd] nulle





2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap

- La concentration locale de la protéine Bicoid détermine de façon dose-dépendante l'activation de plusieurs gènes Gap
- L'effet différentiel en fonction de la concentration de Bcd est lié aux différences d'affinité des séquences cis-régulatrices (CRE) situées dans les différents gènes GAP cibles.



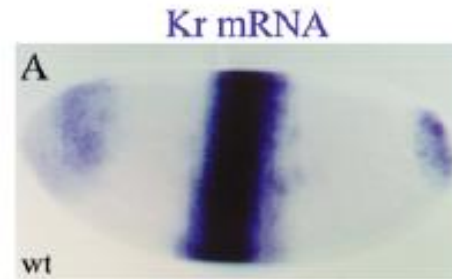
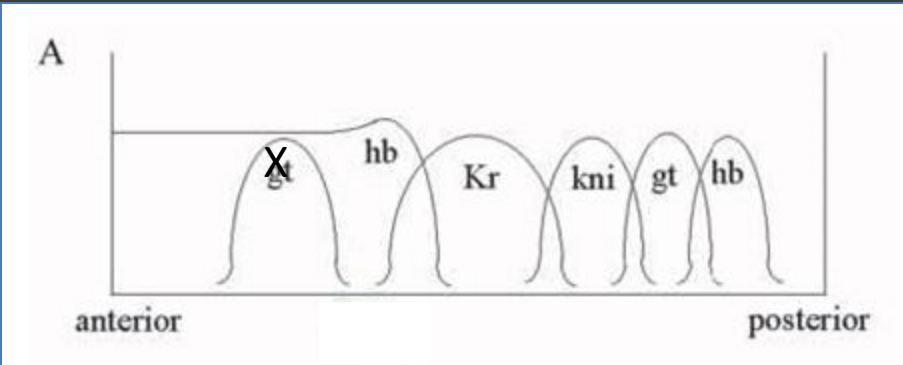
=> Construire un réseau de régulation incluant les gènes maternels et zygotiques impliqués dans la segmentation

- 1) Interaction entre gènes Pair rule et Polarité segmentaire
- 2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap
- 3) Définition des frontières antéro-postérieures des domaines Gap

3) Frontières antéro-postérieures d'expression des gènes

Gap

Ex: *giant* et *Krüppel*



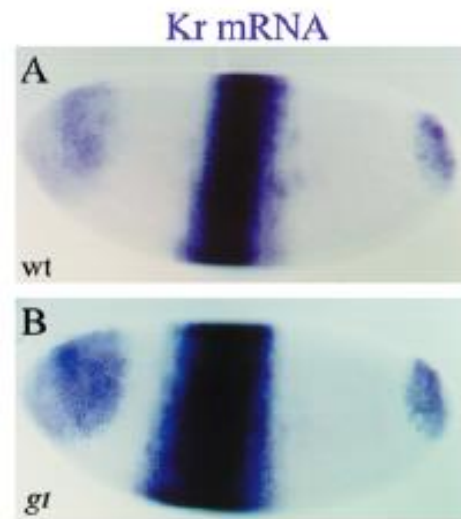
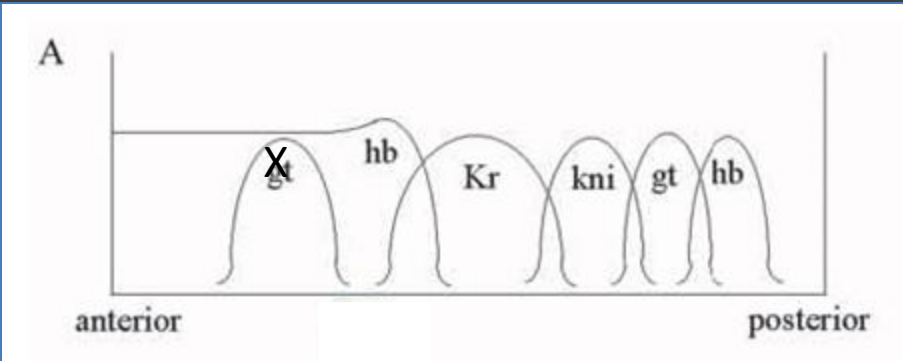
Sauvage

giant -/- ??

3) Frontières antéropostérieures d'expression des gènes

Gap

=> Le produit de *giant* est nécessaire pour réprimer *Krüppel* antérieurement



Sauvage

giant -/-



3) Frontières antéropostérieures d'expression des gènes

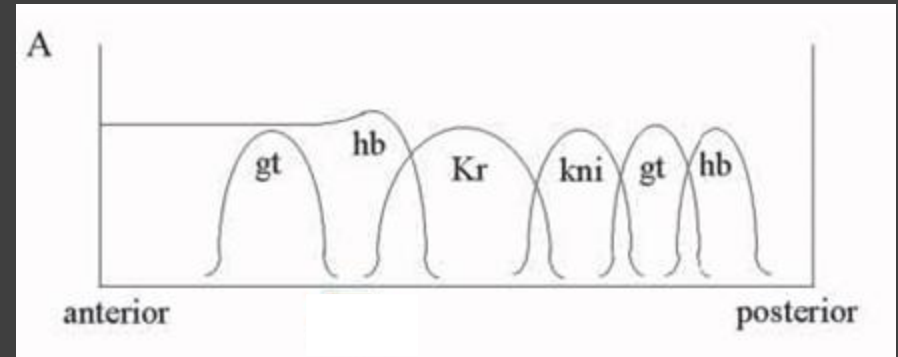
Gap

=> Le produit de *giant* est nécessaire pour réprimer *Krüppel* antérieurement

+ Le produit de *giant* est suffisant* pour restreindre l'expression antérieure de *Krüppel*.

* Quelle manipe pourriez-vous faire pour le tester?

=> *giant* délimite la frontière antérieure d'expression de *Krüppel*



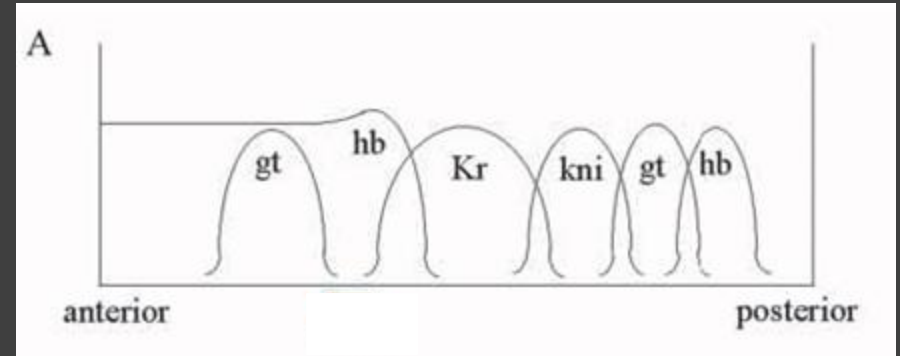


3) Frontières antéropostérieures d'expression des gènes

Gap

=> Le produit de *giant* est nécessaire pour réprimer *Krüppel* antérieurement

+ Le produit de *giant* est suffisant pour restreindre l'expression antérieure de *Krüppel* (résultat non montré)



=> *giant* délimite la frontière antérieure d'expression de *Krüppel*

=> *Comment?*

=> *giant* code un facteur de transcription

=> Comme les autres gènes de la classe Gap

Gènes de segmentation

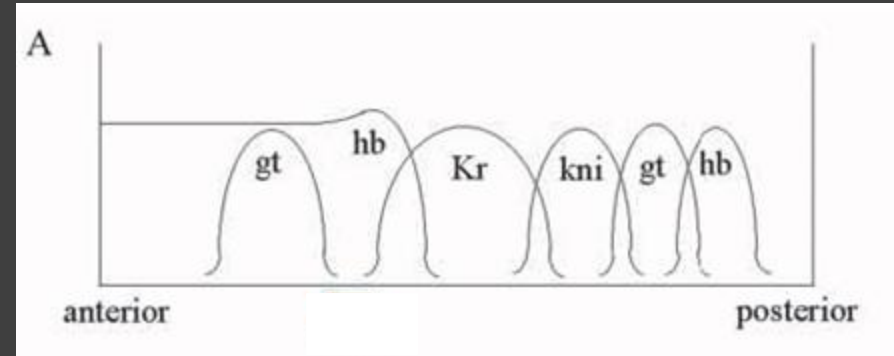
fx Programme de développement et d'achèvement de l'embryon. Chaque fonction peut être définie par un ou deux gènes.

Comment les fonctions d'achèvement sont-elles définies par rapport aux autres?

Méthode?

3) Frontières antéropostérieures d'expression des gènes

Gap



giant réprime *Krüppel*
Krüppel réprime *giant*

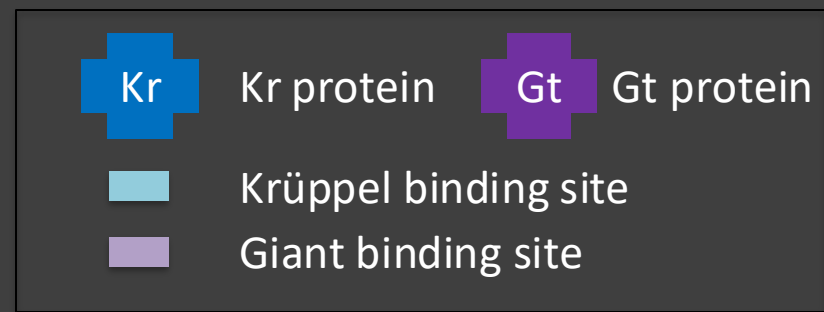
⇒ *giant* délimite la frontière antérieure d'expression de *Krüppel*

⇒ *Comment?*

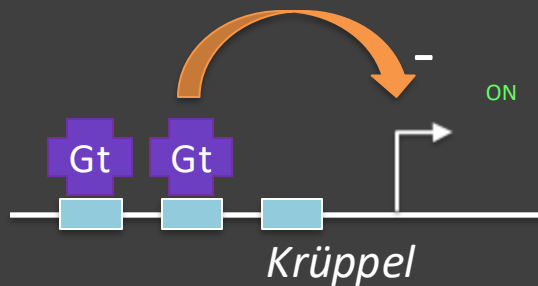
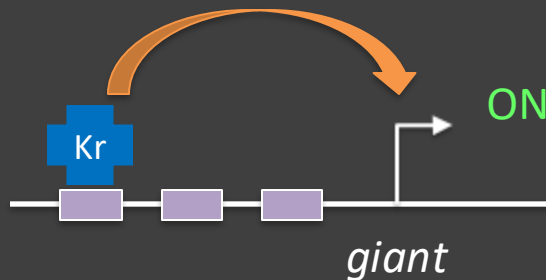
⇒ *giant* code un facteur de transcription

⇒ Comme les autres gènes de la classe Gap

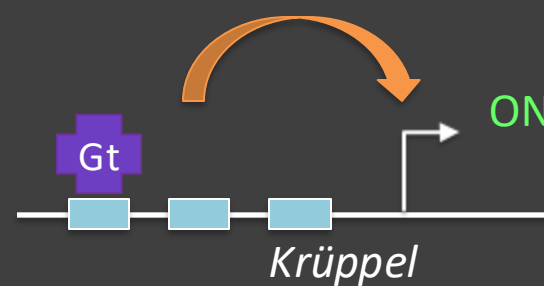
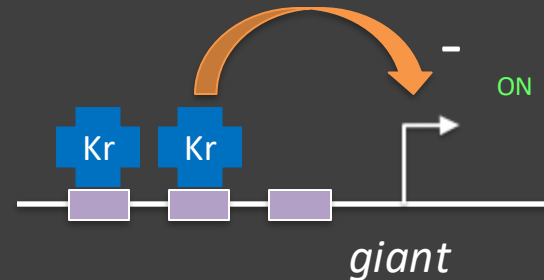
- ⇒ Modélisation de l'effet antagoniste des gènes Gap
- ⇒ Etat initial: les domaines se recouvrent partiellement



[] élevée
[] faible

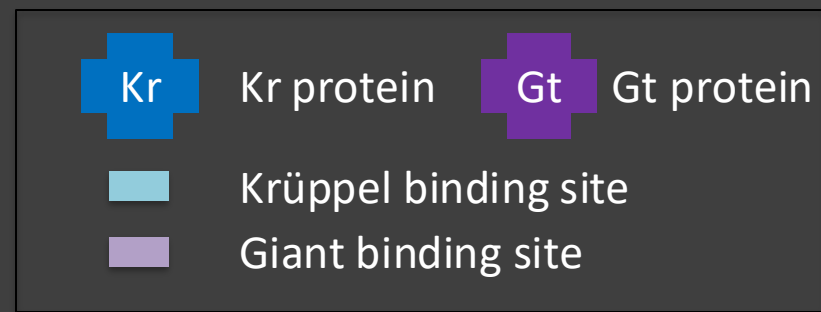


[] faible
[] élevée

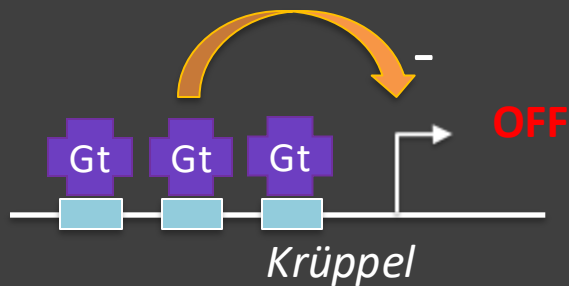


⇒ Modélisation de l'effet antagoniste des gènes Gap

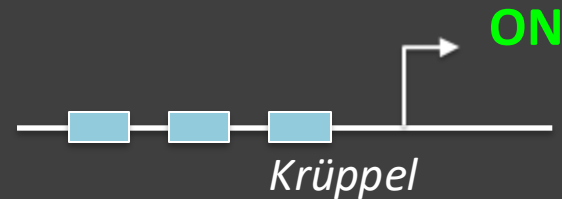
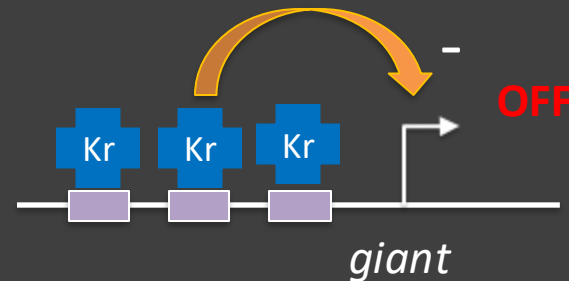
⇒ Les domaines deviennent exclusifs



[Gt] élevée
[Kr] ? nulle



[Gt] ? nulle
[Kr] élevée





3) Définition des frontières antéro-postérieures des domaines Gap

- Les domaines d'expression des gènes GAP initiés par les gradients maternels sont partiellement chevauchants
- Par repression transcriptionnelle réciproque, les domaines des gènes GAP deviennent exclusifs

Régulation en cascade des gènes de segmentation



Ordonner les fonctions (schéma)



Définir le sens +/- des interactions



Tenir compte du contexte spatial



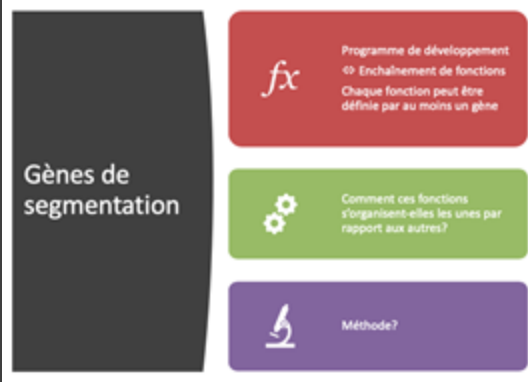
=> interpréter les interactions génétiques



=> tester les fonctions à l'échelle moléculaire



Proposer un mécanisme expliquant la segmentation moléculaire



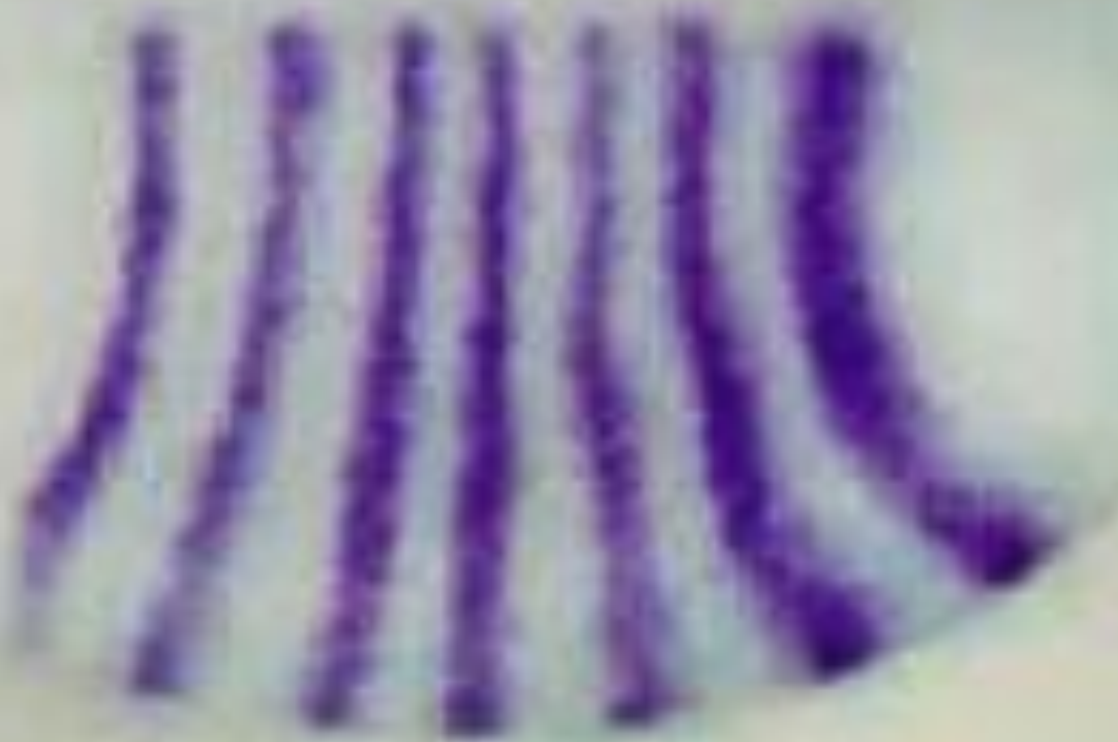
=> Construire un réseau de regulation incluant les gènes maternels et zygotiques impliqués dans la segmentation

- 1) Interaction entre gènes Pair rule et Polarité segmentaire
- 2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap
- 3) Définition des frontières antéropostérieures des domaines Gap
- 4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

- Expression alternée sur un axe (1D) d'un gène Pair rule

even-skipped



4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

- Expression d'un gène alternée sur un axe (1D):

even-skipped

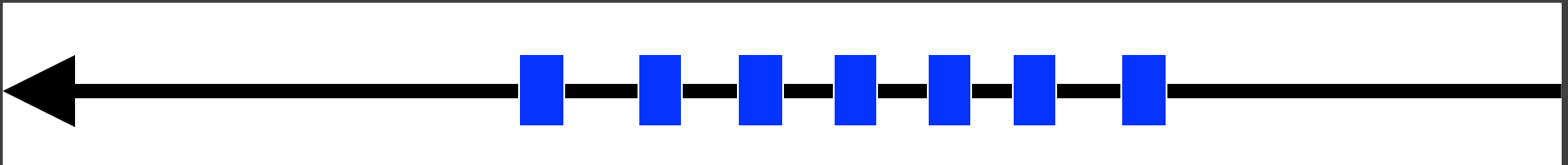


4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

- Expression alternée sur un axe (1D) d'un gène Pair rule

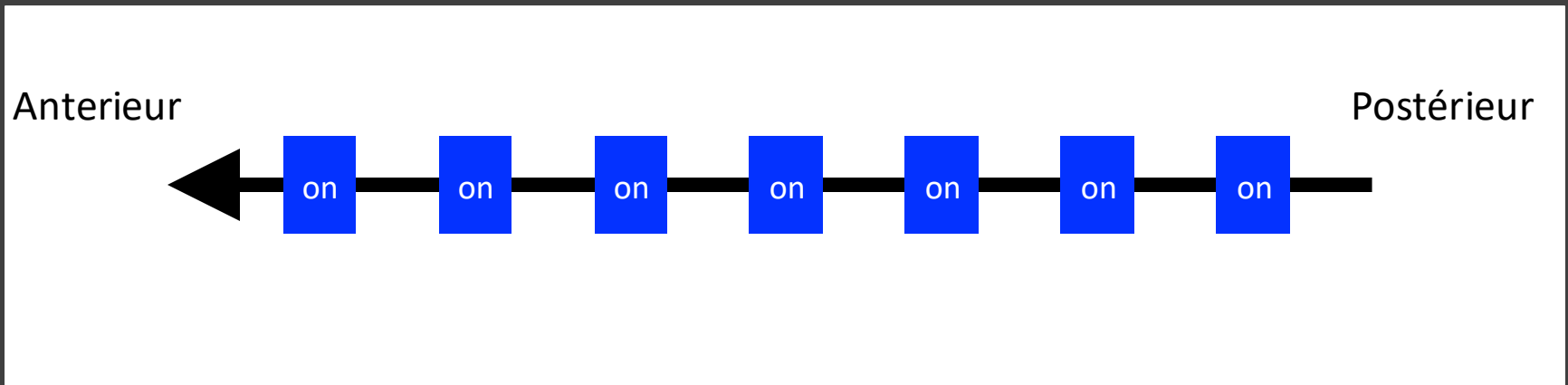
Antérieur

Postérieur



4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

- Expression alternée sur un axe (1D) d'un gène Pair rule



4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

=> périodicité spatiale de l'activation transcriptionnelle

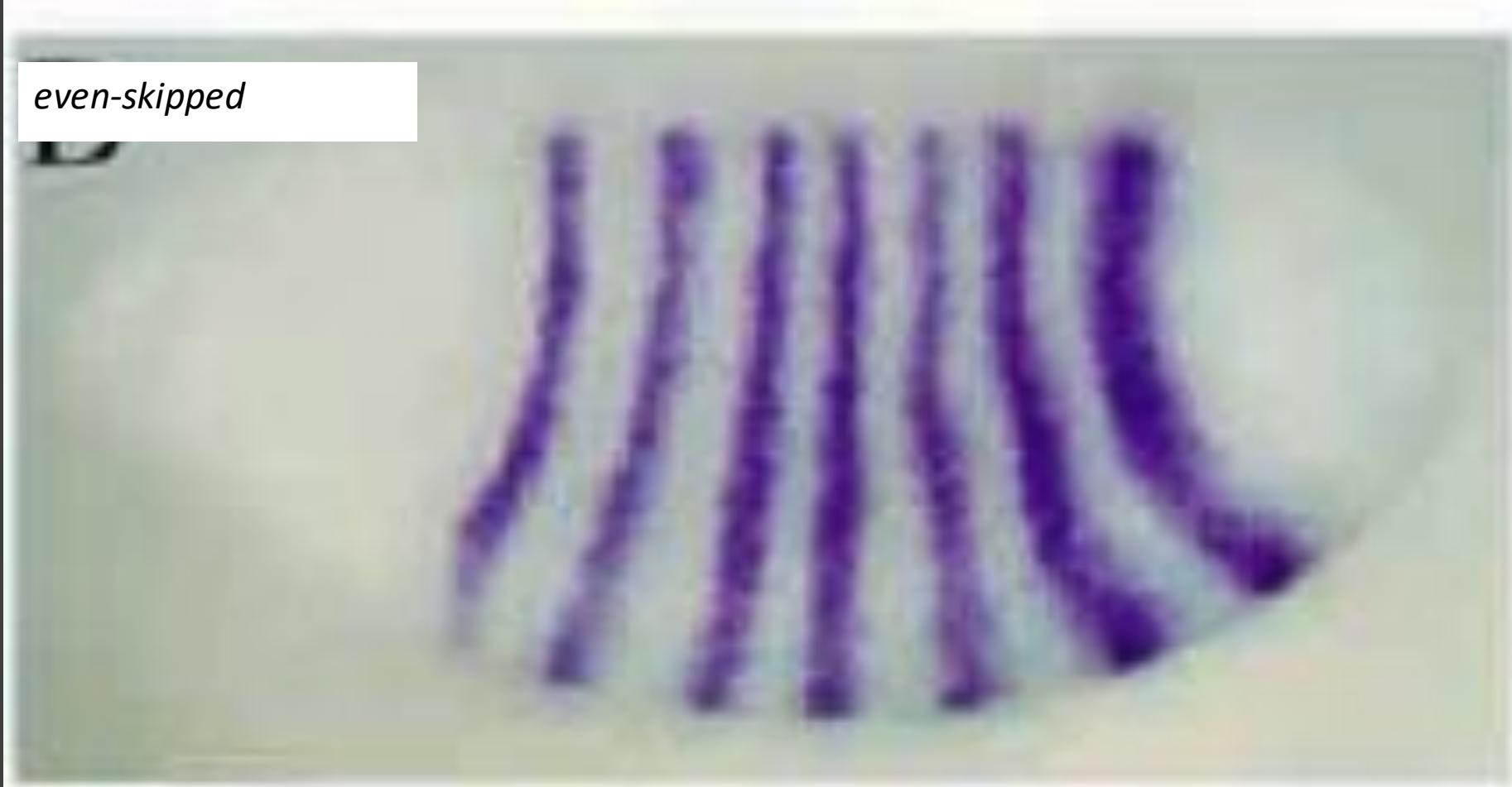


4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

Comment expliquer la périodicité d'expression sur un axe?

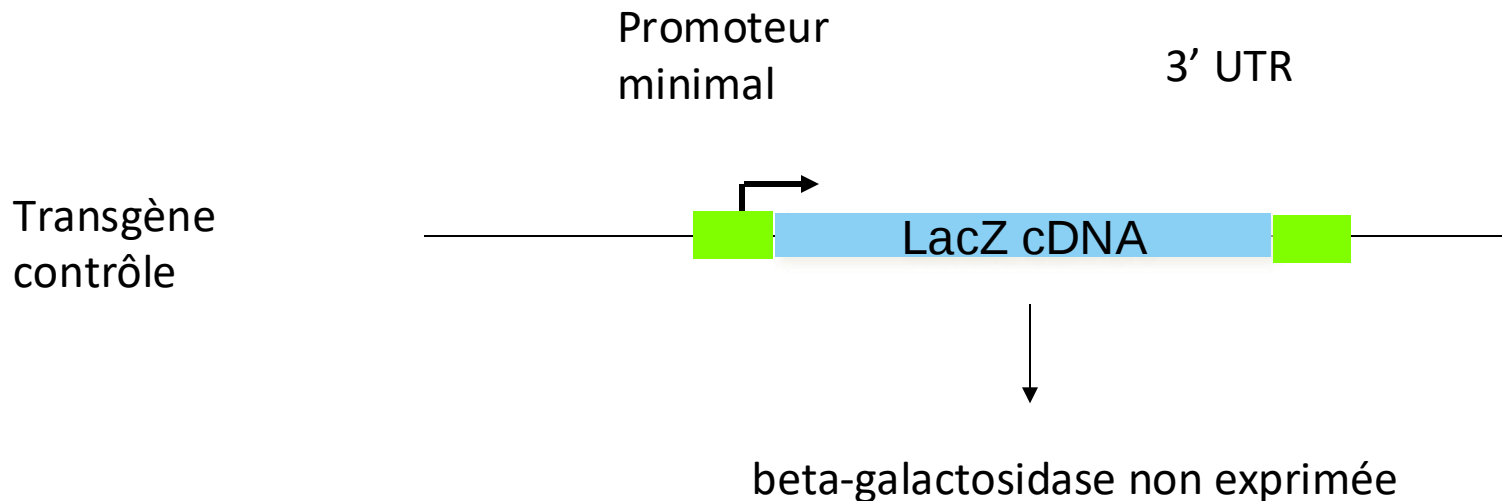
- Exemple: périodicité des bandes *even-skipped*

even-skipped



4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

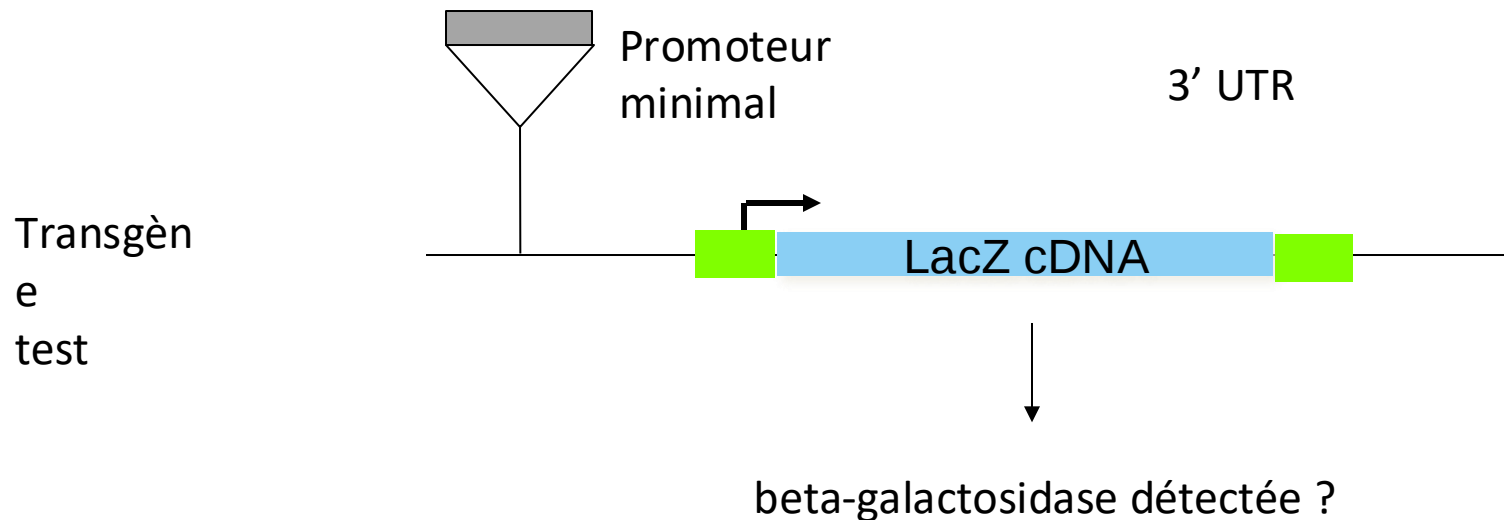
- Exemple: périodicité des bandes *even-skipped*
 - Approche moléculaire: utilisation de gène rapporteur
 - => Détection de l'activité transcriptionnelle



4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

- Exemple: périodicité des bandes *even-skipped*
=> Détection de l'activité transcriptionnelle d'un potentiel élément « cis-régulateur »

Élément cis-régulateur à tester



Etape 1: délimitation moléculaire du locus *eve*

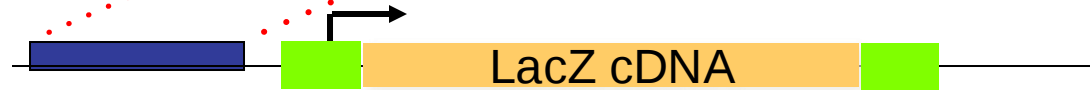


=> Fragment génomique suffisant pour restaurer un phénotype sauvage lorsqu'il est présent sous forme de transgène chez un mutant de *eve*.

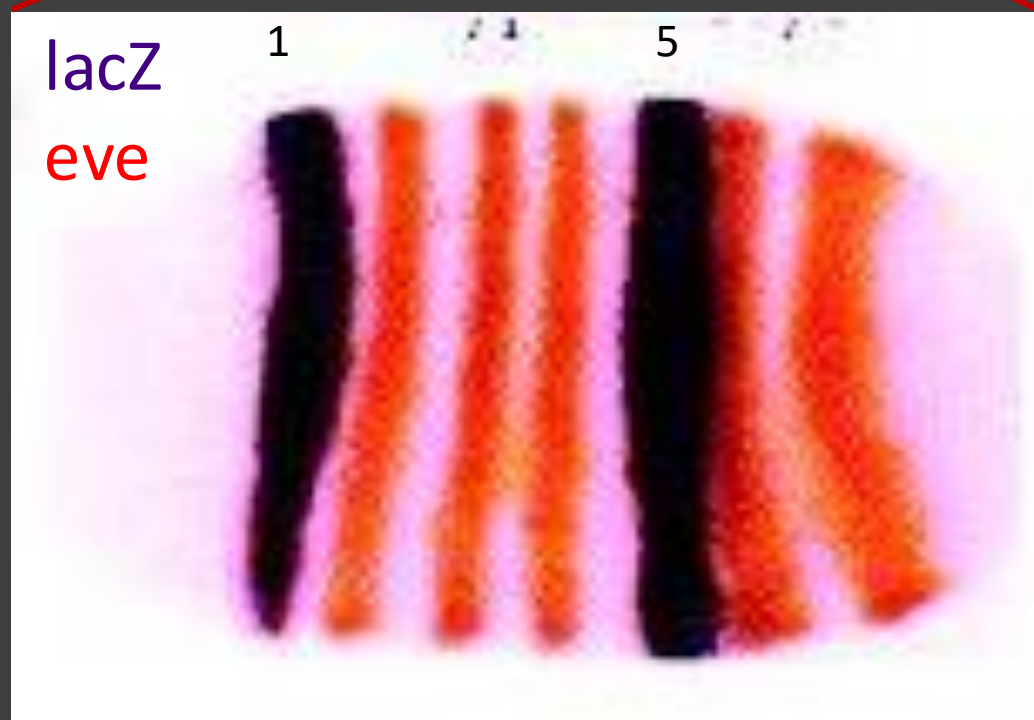
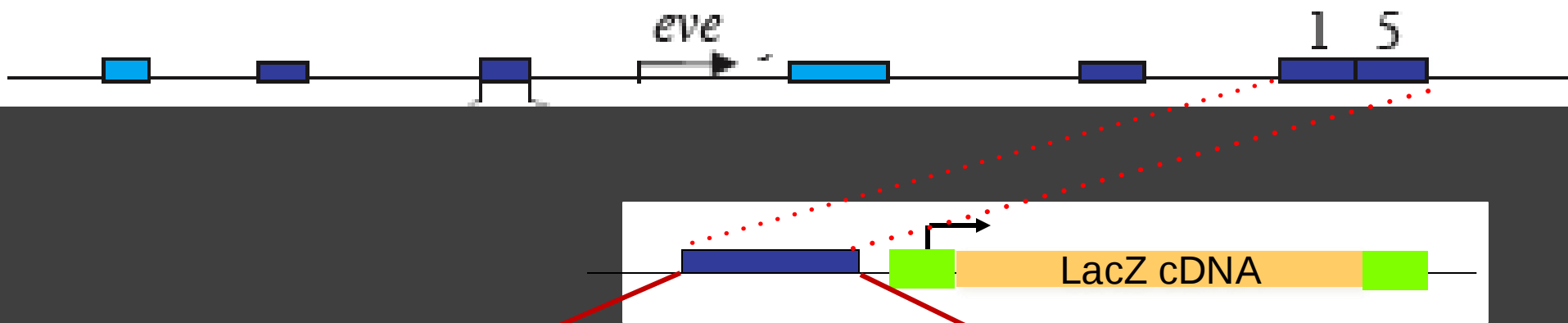
Etape 2: Test de fragments génomiques de *eve* => identification des séquences cis-régulatrices (CRE)



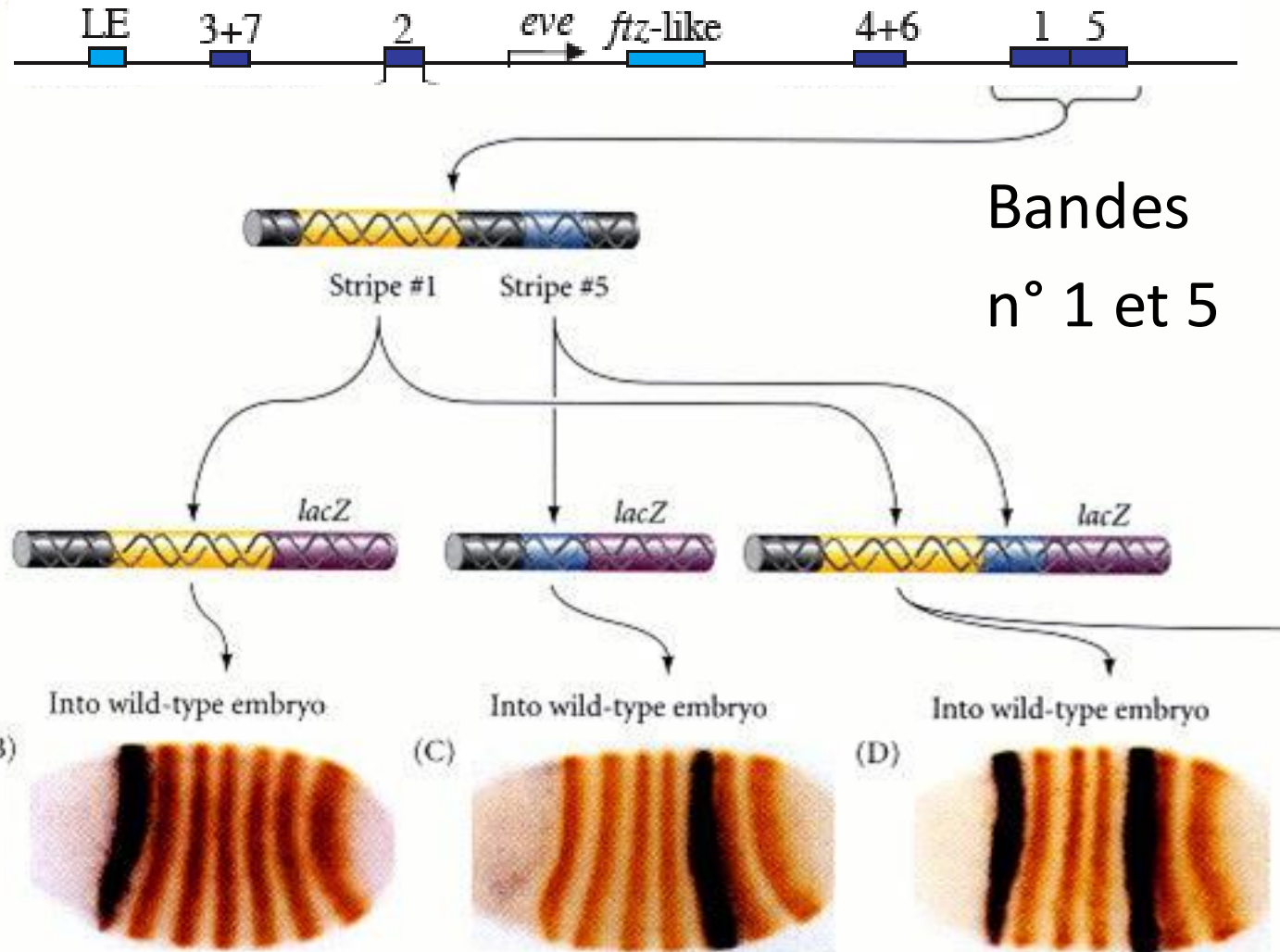
Transgène
Test



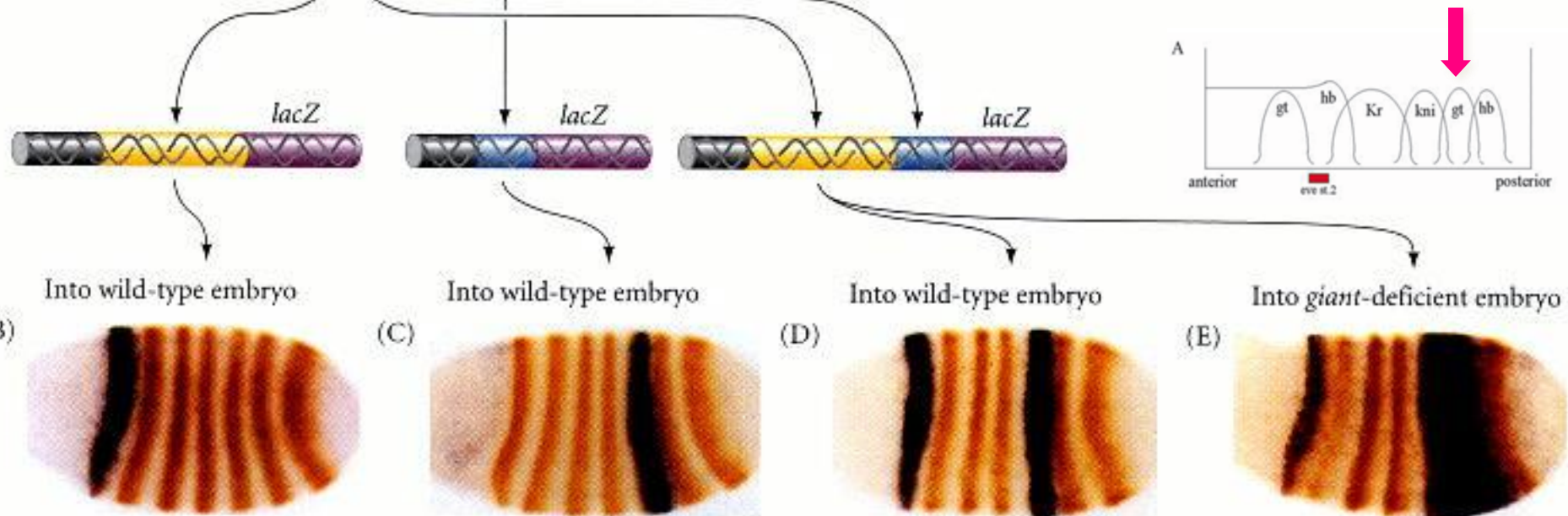
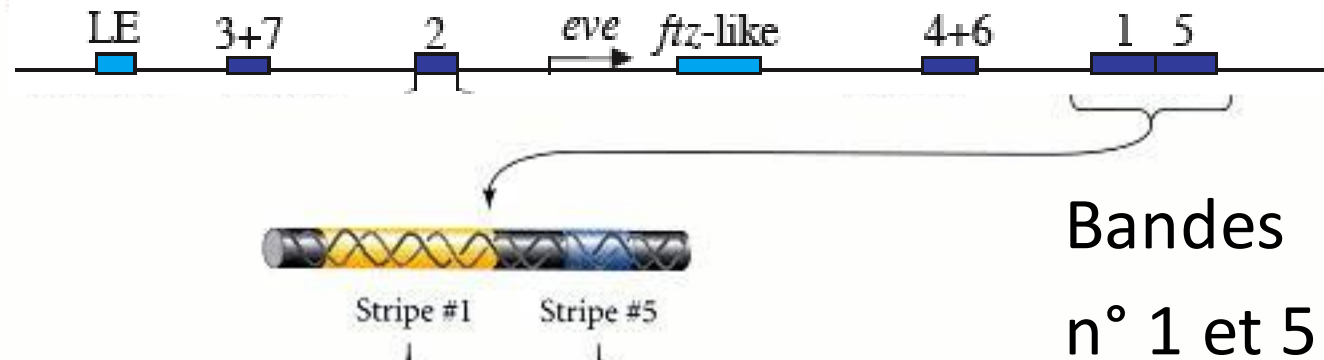
beta-galactosidase
Exprimée?
Où?



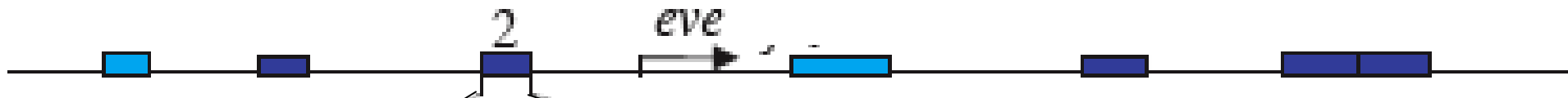
Expression périodique de *eve* contrôlée par des éléments *cis*-régulateurs séparables, spécifiques de chaque bande



Les éléments *cis*-régulateurs sont sous la dépendance des produits des gènes Gap



« Dissection moléculaire » de l'élément *cis*-régulateur contrôlant l'expression de *eve* dans la bande 2

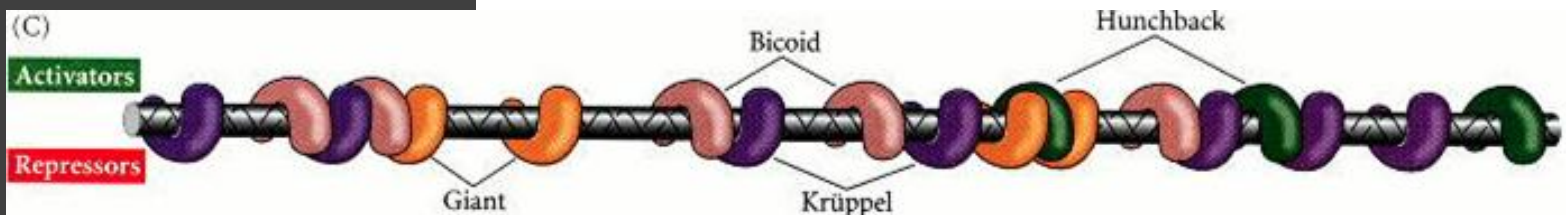
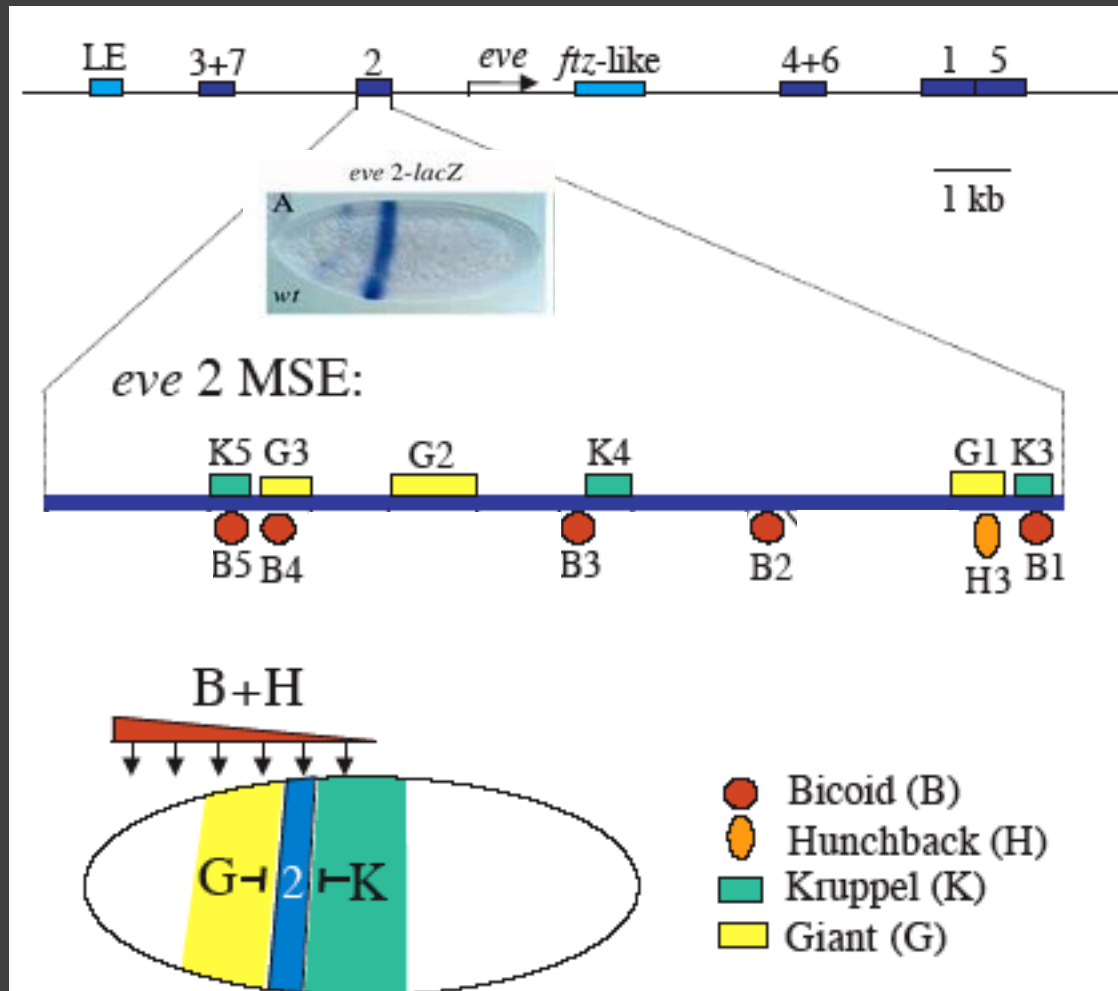


2

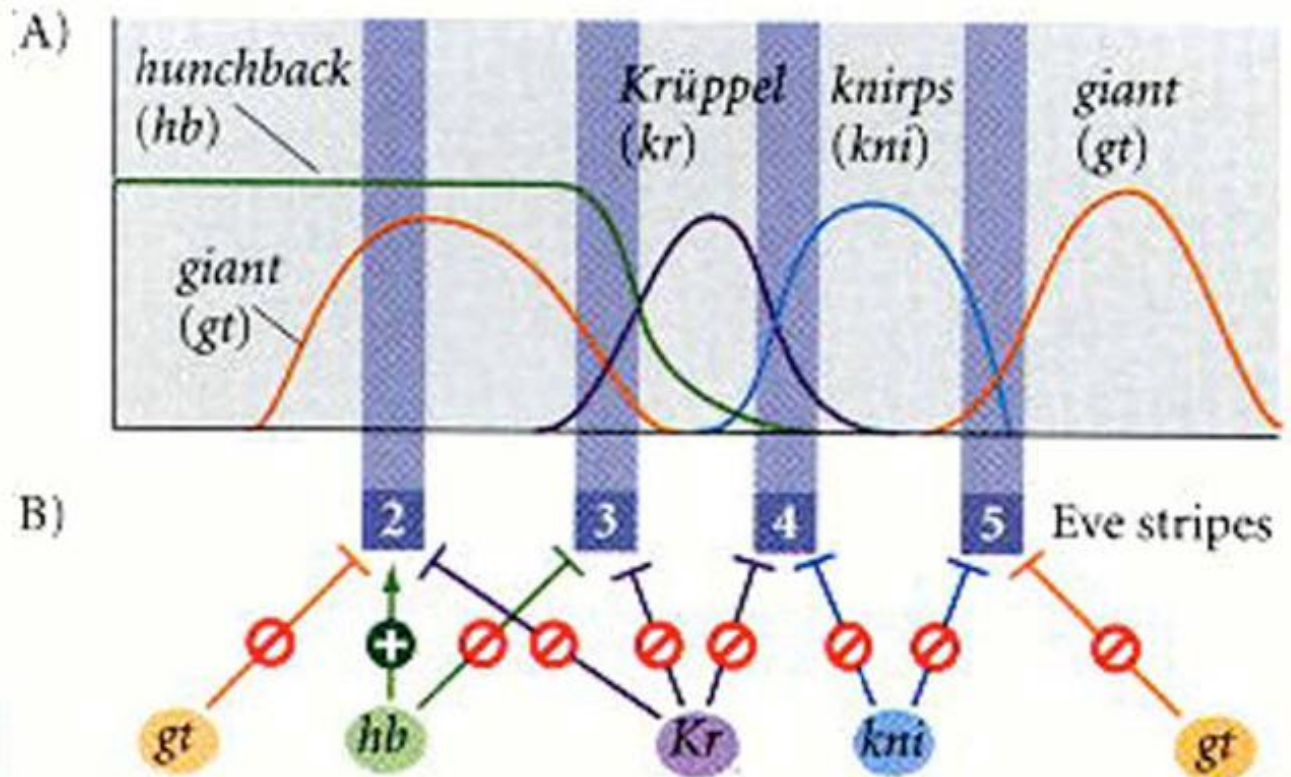
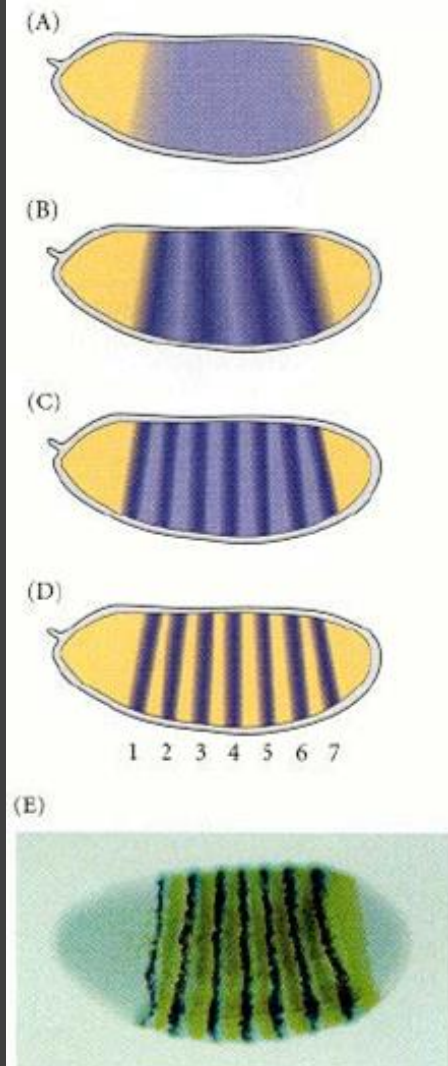
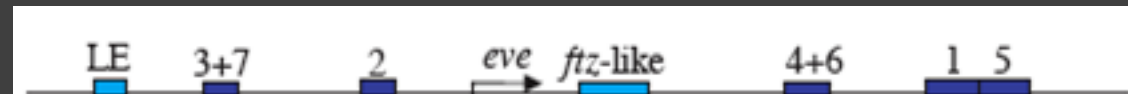


« Dissection moléculaire » de l'élément *cis*-régulateur contrôlant l'expression de *eve* dans la bande 2

- Bande n° 2 *eve*
⇒ Minimal stripe element 2 : *MSE2*
⇒ Chaque élément est composite et intègre « l'information de position » locale



4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe





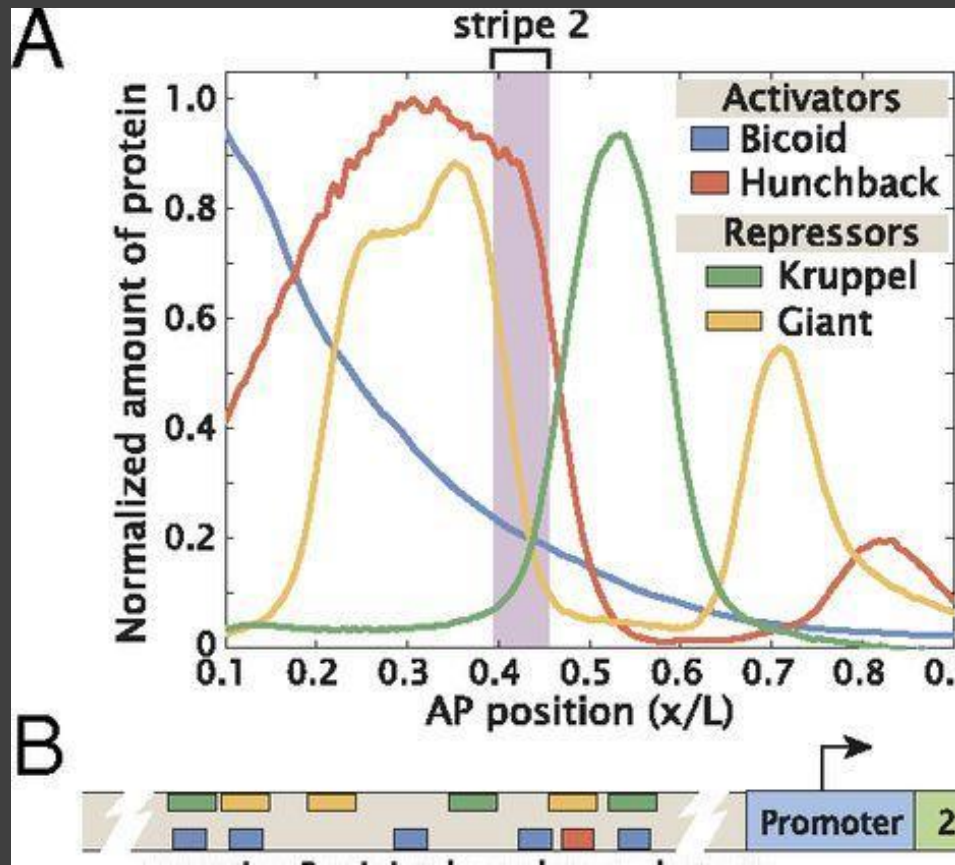
4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

- Résulte d'éléments *cis*-régulateurs dont l'activité dépend de la combinaison de facteurs *trans*-activateurs ou répresseurs qui s'y fixent.
- Cette combinaison varie sur l'axe antéro-postérieur.
- Une combinaison unique est requise pour l'activation d'un élément *cis*-régulateur spécifique.

4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

Dynamique du process: Détection de la transcription sous contrôle du MSE2 à l'aide d'un rapporteur *in vivo*

<https://www.pnas.org/content/111/29/10598>

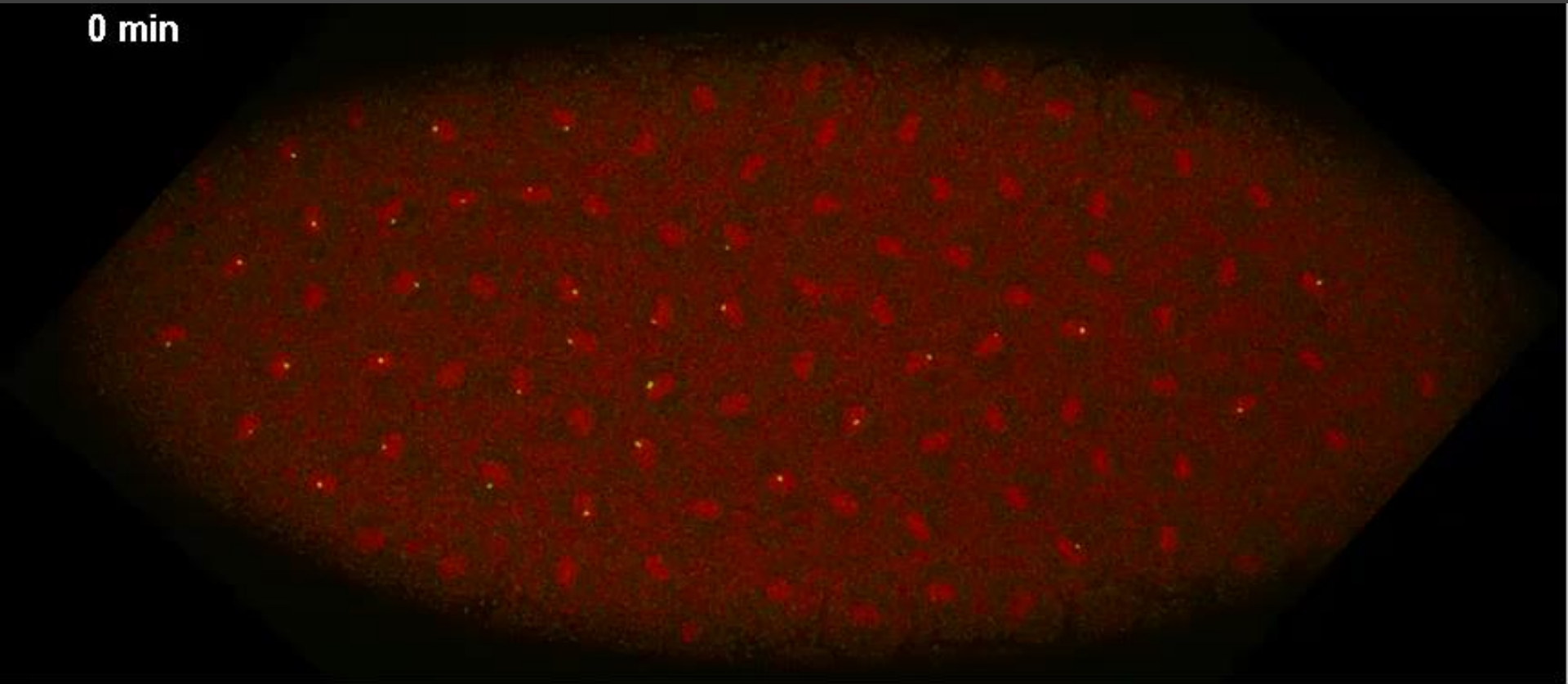


4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe

Dynamique du process: Détection de la transcription sous contrôle du MSE2 à l'aide d'un rapporteur *in vivo*

<https://www.pnas.org/content/111/29/10598>

0 min



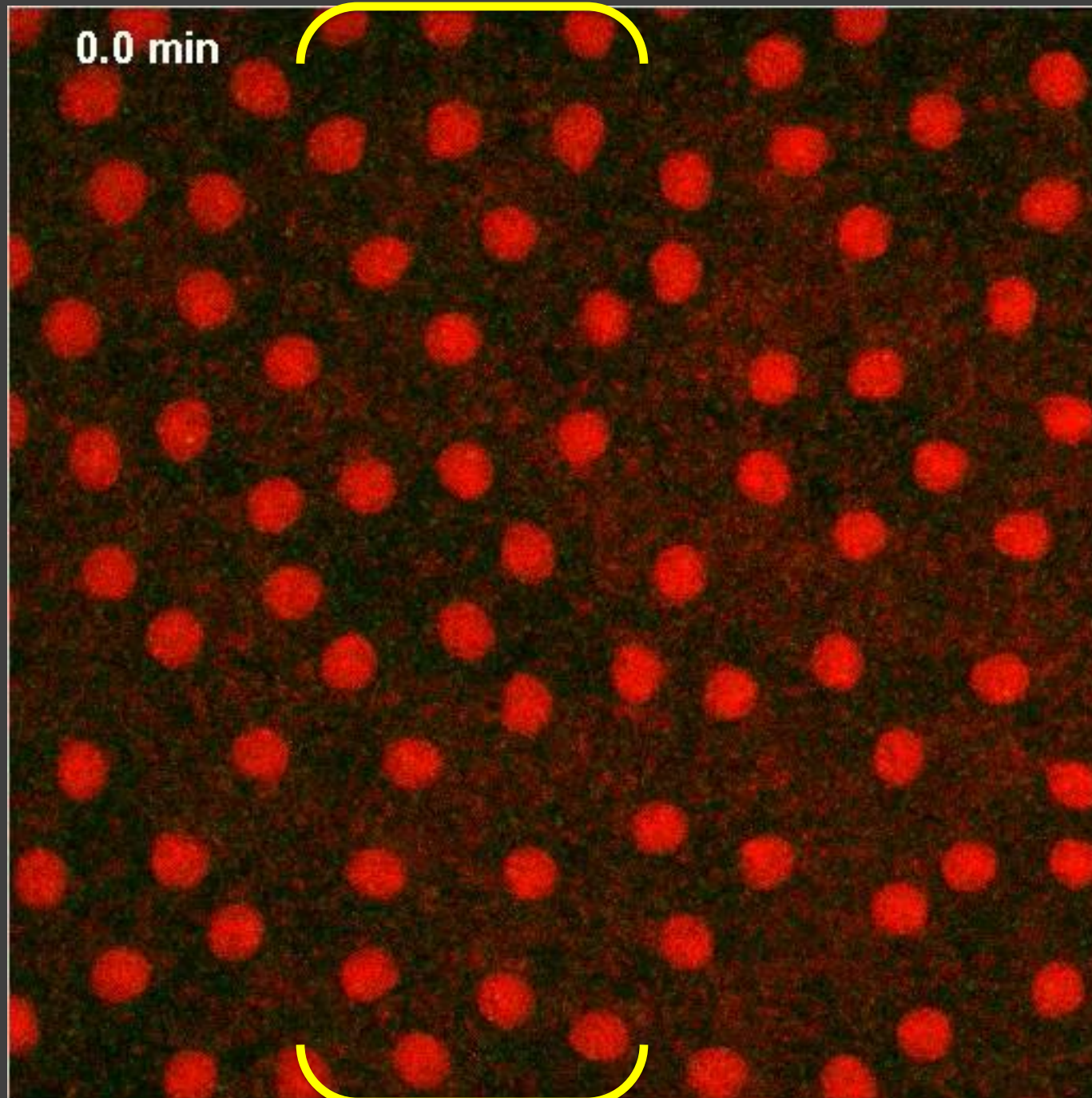
Gènes de segmentation

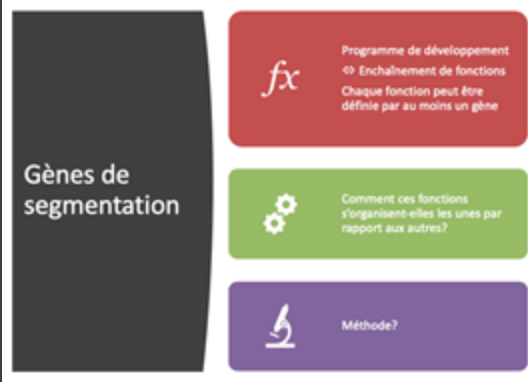
f_x

Programme de développement
et différenciation des fonctions
Chaque fonction peut être
attribuée par un nombre ou un gène

Comment les fonctions
s'organisent-elles les unes par
rapport aux autres?

Méthodes?





- 1) Interaction entre gènes Pair rule et Polarité segmentaire
- 2) Interactions génétiques entre *bicoid* et les gènes Gap
- 3) Définition des frontières antéropostérieures des domaines Gap
- 4) Pattern « zébré »: expression périodique sur un axe
- 5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

Ressource:

<https://books.google.fr/books?id=XDowDwAAQBAJ&pg=PA80&lpg=PA80&dq=enrailed+patched+ftz+eve&source=bl&ots=tSrhGXQkoK&sig=ACfU3U3oJuZZtGPAuwx9b1qvblP7PlaAZQ&hl=fr&sa=X&ved=2ahUKEwiAreIaxM7nAbWMx0UKHTsv8toQ6AEwAHoECAyQAAQ#v=onepage&q=enrailed%20patched%20ftz%20eve&f=false>

Gènes de segmentation

f_x
Programme de développement
et d'achèvement de fonctions
Chaque fonction peut être
activée par un nombre infini de gènes

∞
Contraintes des fonctions
L'ajout d'un gène peut être
nécessaire pour répondre aux contraintes

∞
Méthodes

5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

Combinaison des profils périodiques *Pair rule* EVE et FTZ

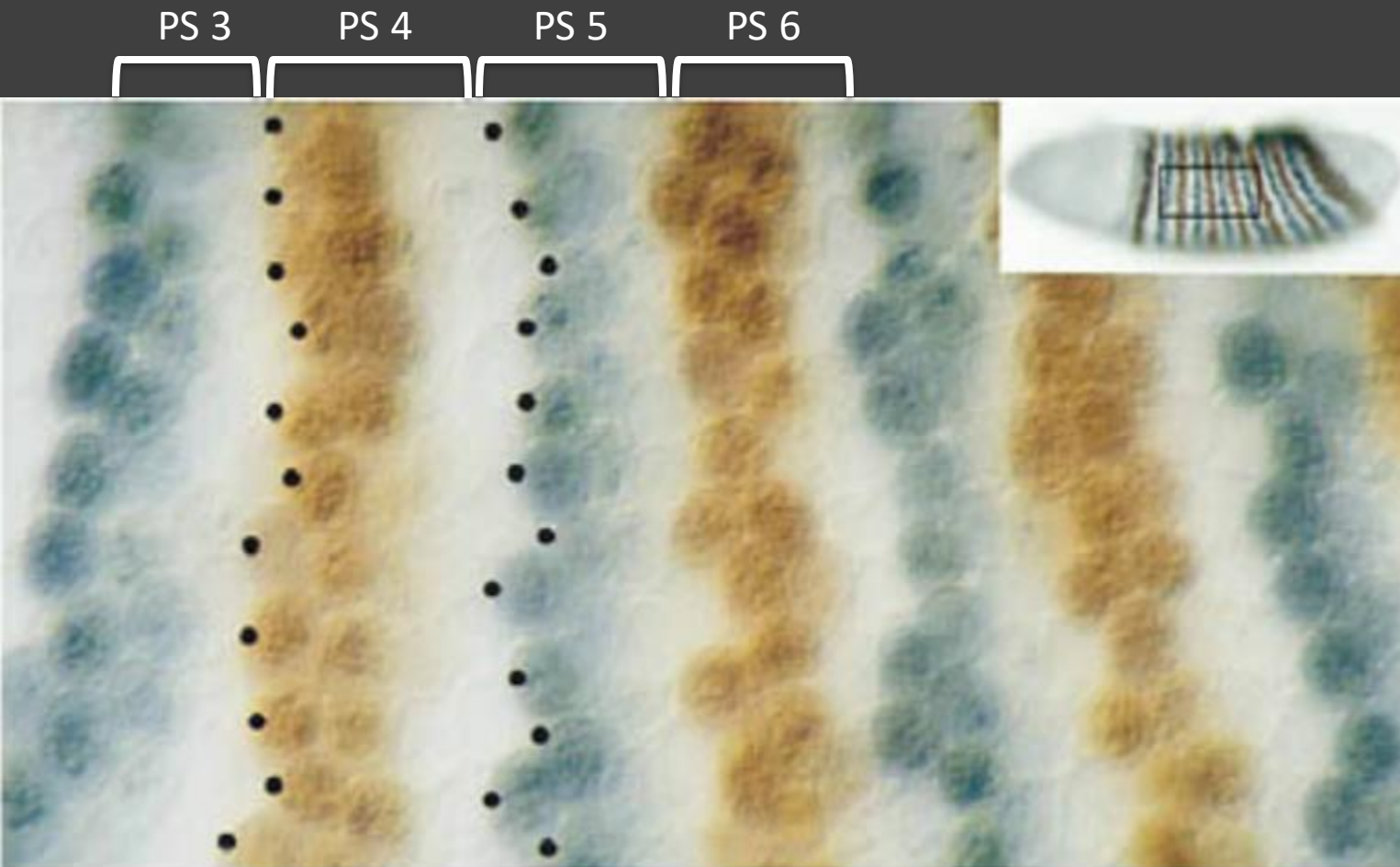


Figure 1. The (C) At early gastrulation, the embryo consists of a single cell. As the step-by-step gradient, the embryo *fushi tarazu* (s) *skipped* (grey), positioned stripes have sharp anterior boundaries. The boundaries viewed by Law which is the set larval and adult of the wing set part of T1, is o Photograph of

EVE
FTZ

Gènes de segmentation

$\int x$
Programme de développement et d'achèvement des fonctions
Chaque fonction peut être définie par un nombre infini de gènes

Comment les fonctions s'organisent-elles les unes par rapport aux autres?

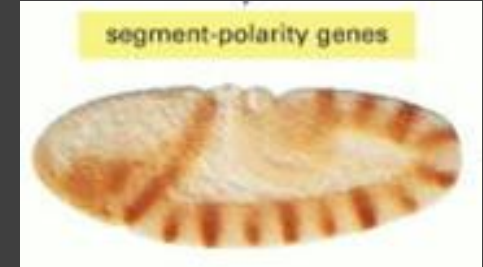
Méthodes?

5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

Profils périodiques *Pair rule*:

7 bandes paires + 7 impaires

Profil polarité segmentaire: 14 bandes



Gènes de segmentation

f_x

Programme de développement
et différenciation des cellules
Chaque fonction peut être
attribuée par un nombre ou un gène

Comment les cellules
s'organisent-elles les unes par
rapport aux autres?

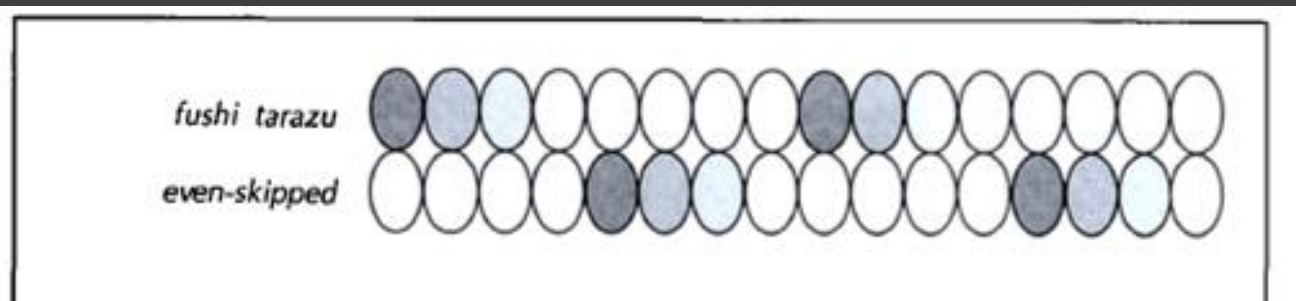
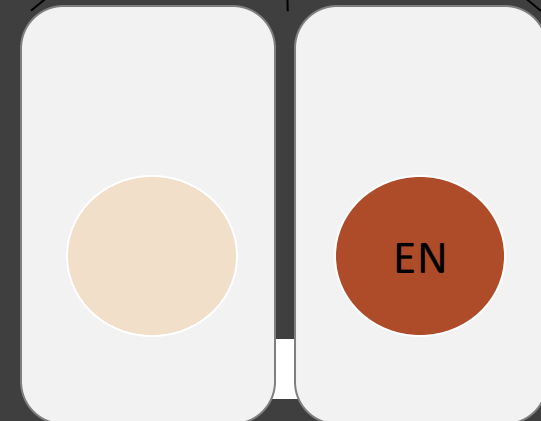
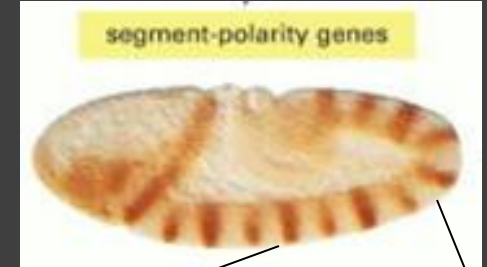
Méthodes?

5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

Profils périodiques *Pair rule*:

7 bandes paires + 7 impaires

Profil polarité segmentaire: 14 bandes



Gènes de segmentation

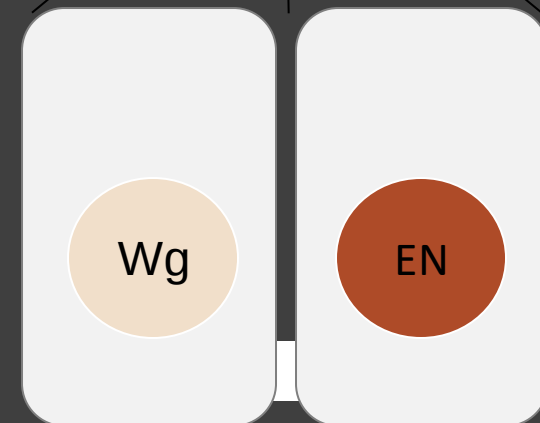
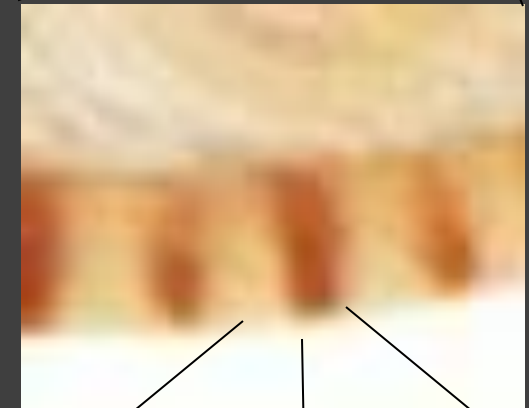
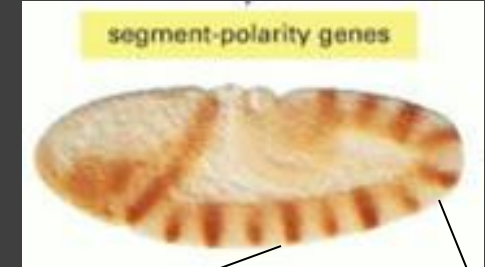
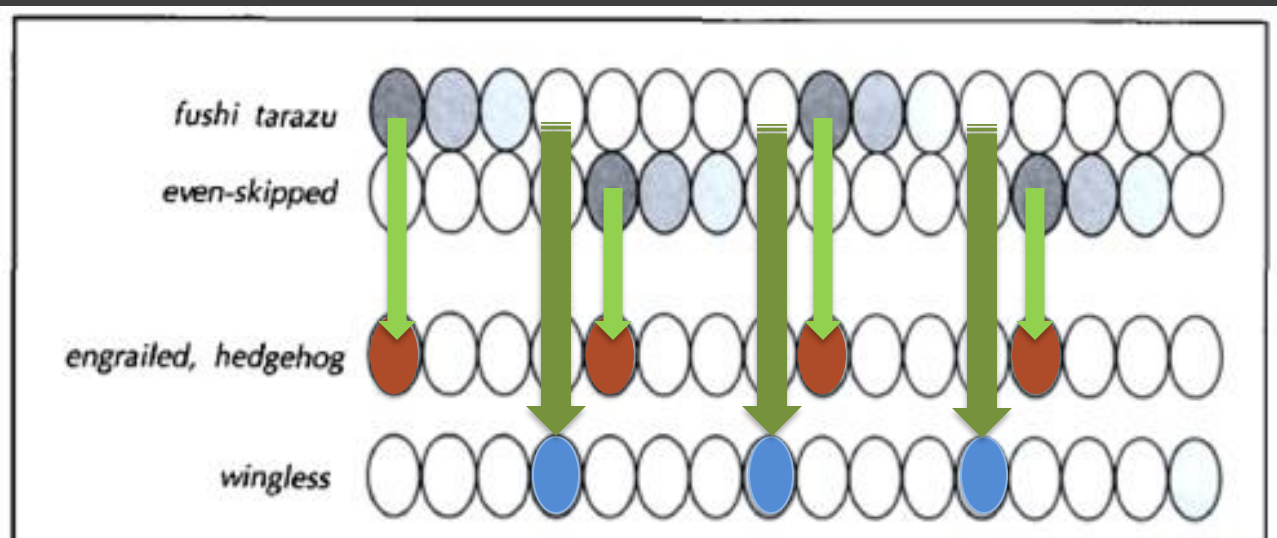
f_x
Programme de développement et d'achèvement de l'embryon
Chaque fonction peut être activée par un autre gène

Comment les cellules s'organisent-elles en segments par rapport aux autres?

Méthodes?

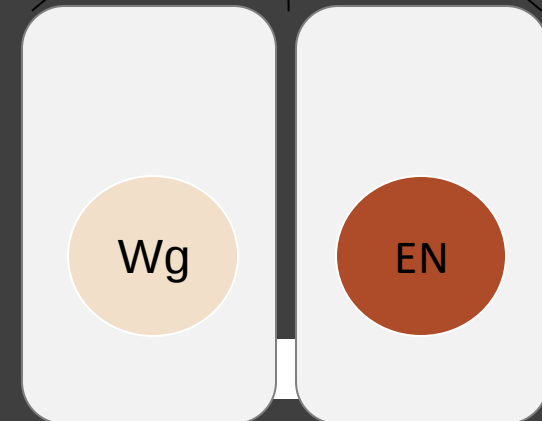
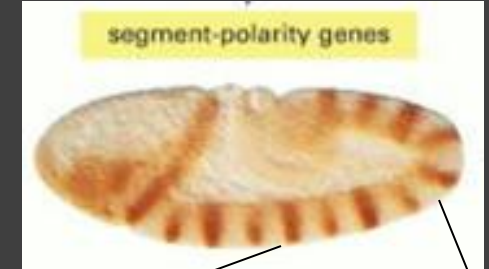
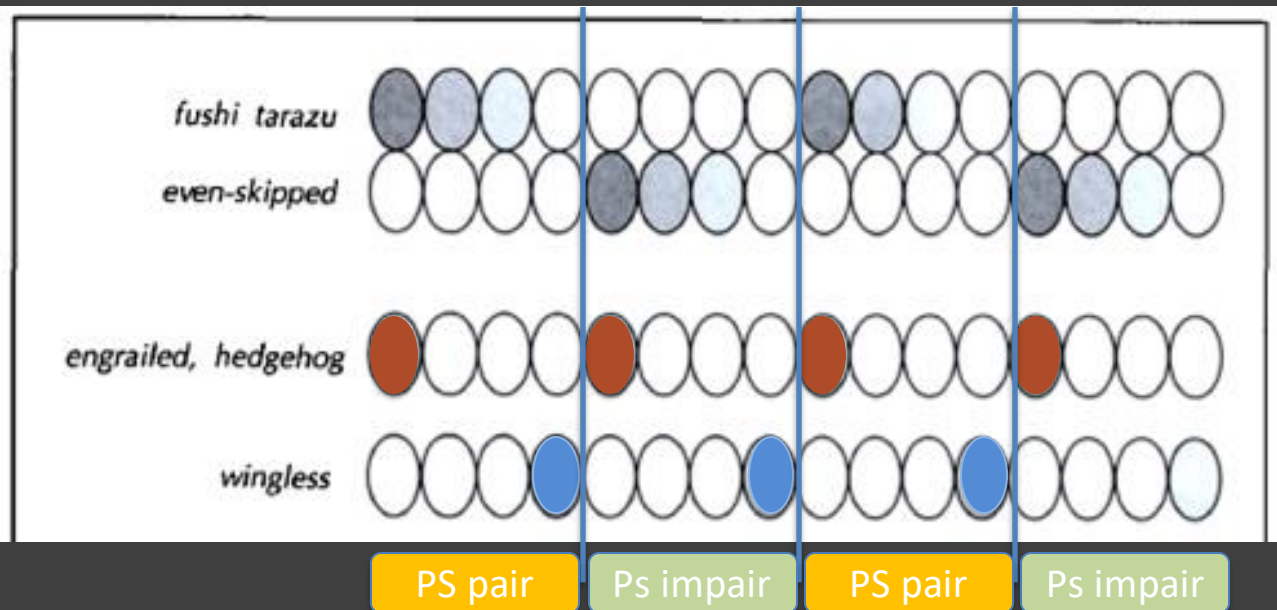
5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

Combinaison de profils périodiques *Pair rule*
=> Activation transcriptionnelle de *en*, *hh* et *wg*



5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

Combinaison de profils périodiques *Pair rule*
 ⇒ Activation transcriptionnelle de *en*, *hh* et *wg*
 De part et d'autre de la frontière parasegmentaire

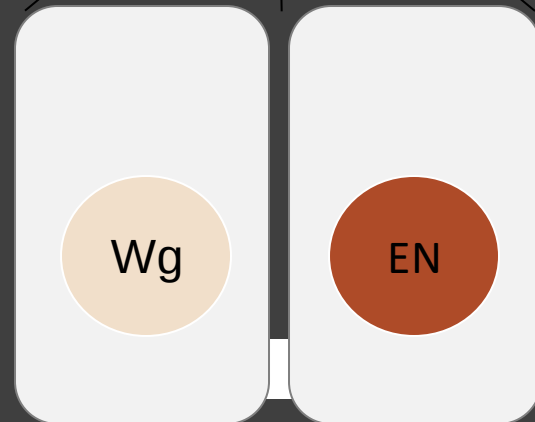
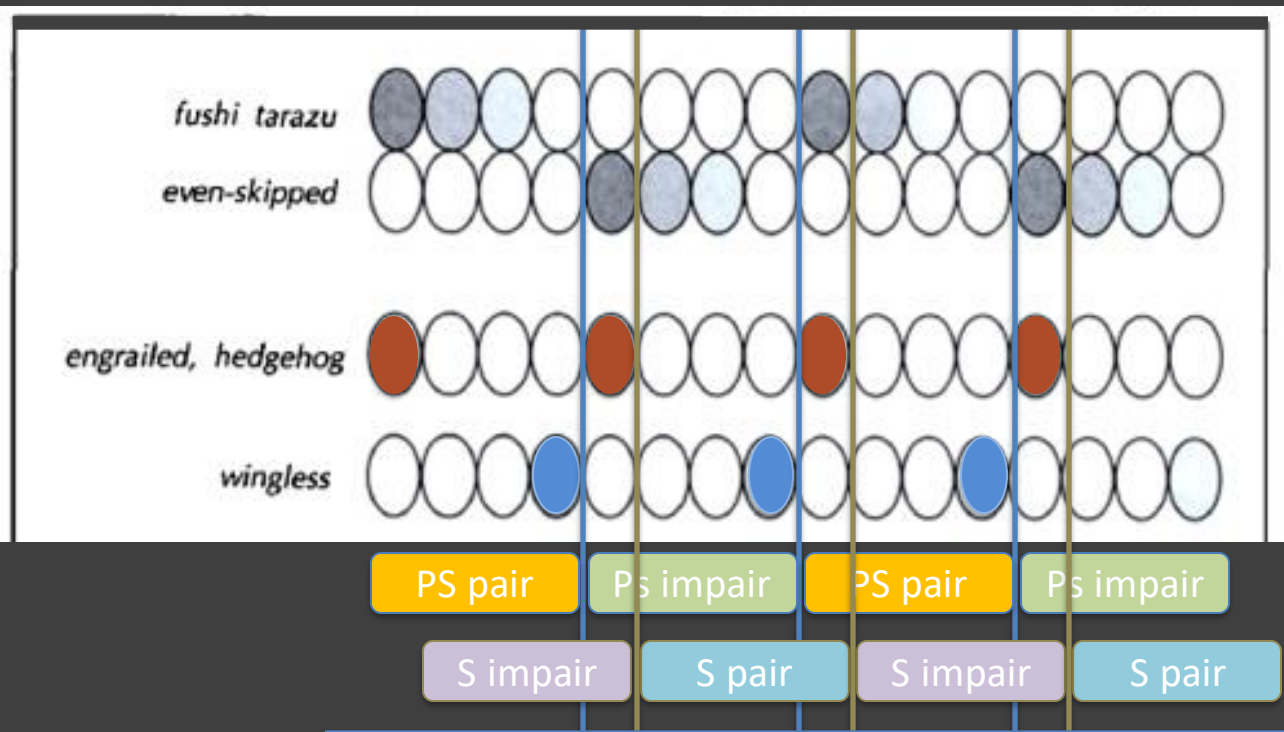
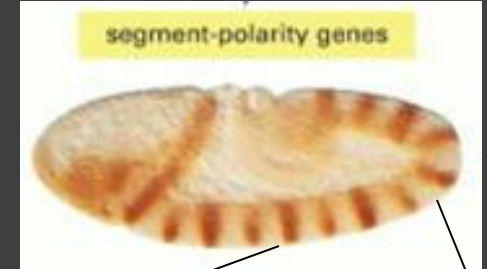


5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

Combinaison de profils périodiques *Pair rule*

⇒ Activation transcriptionnelle de *en*, *hh* et *wg*

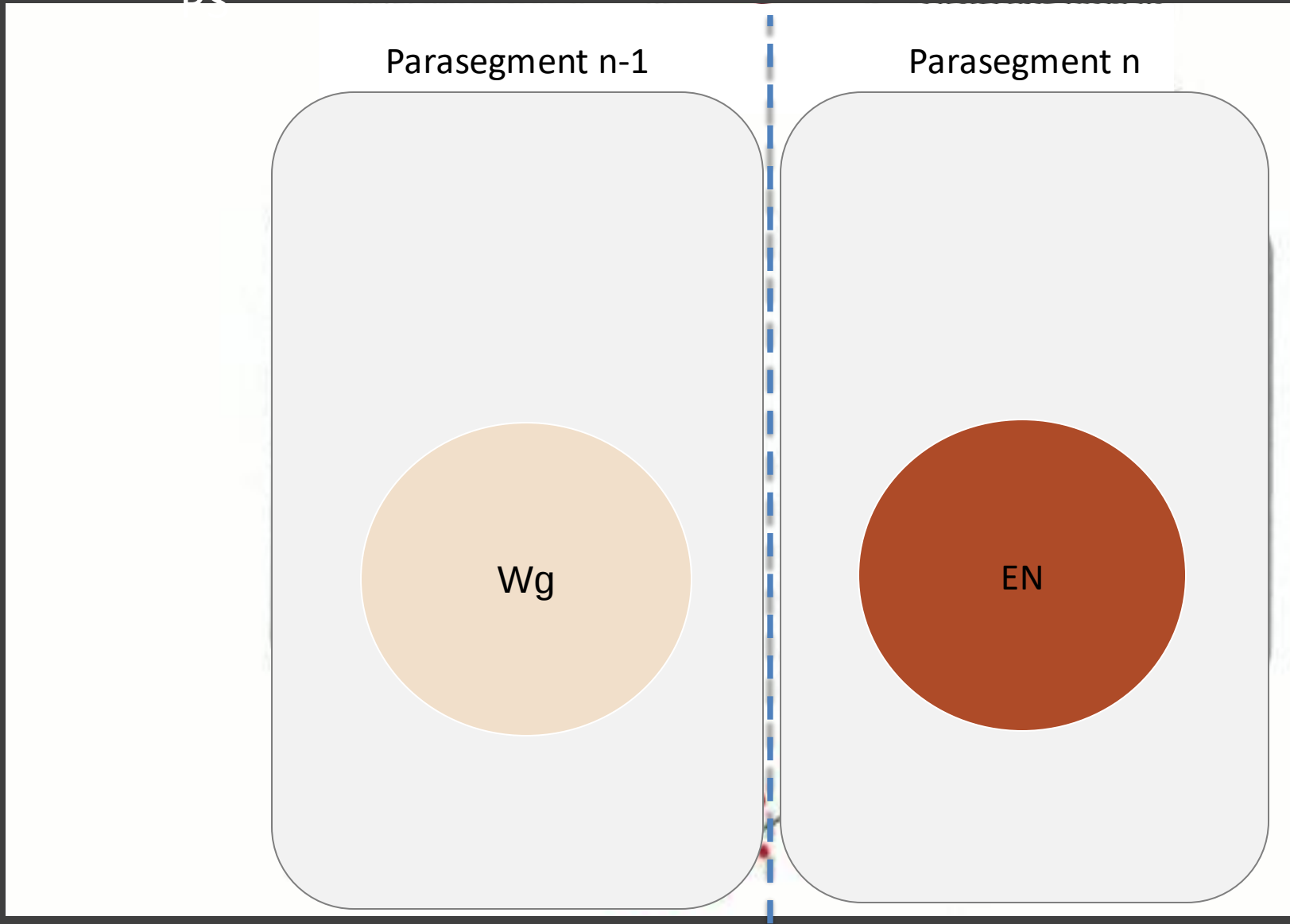
De part et d'autre de la frontière parasegmentaire



5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

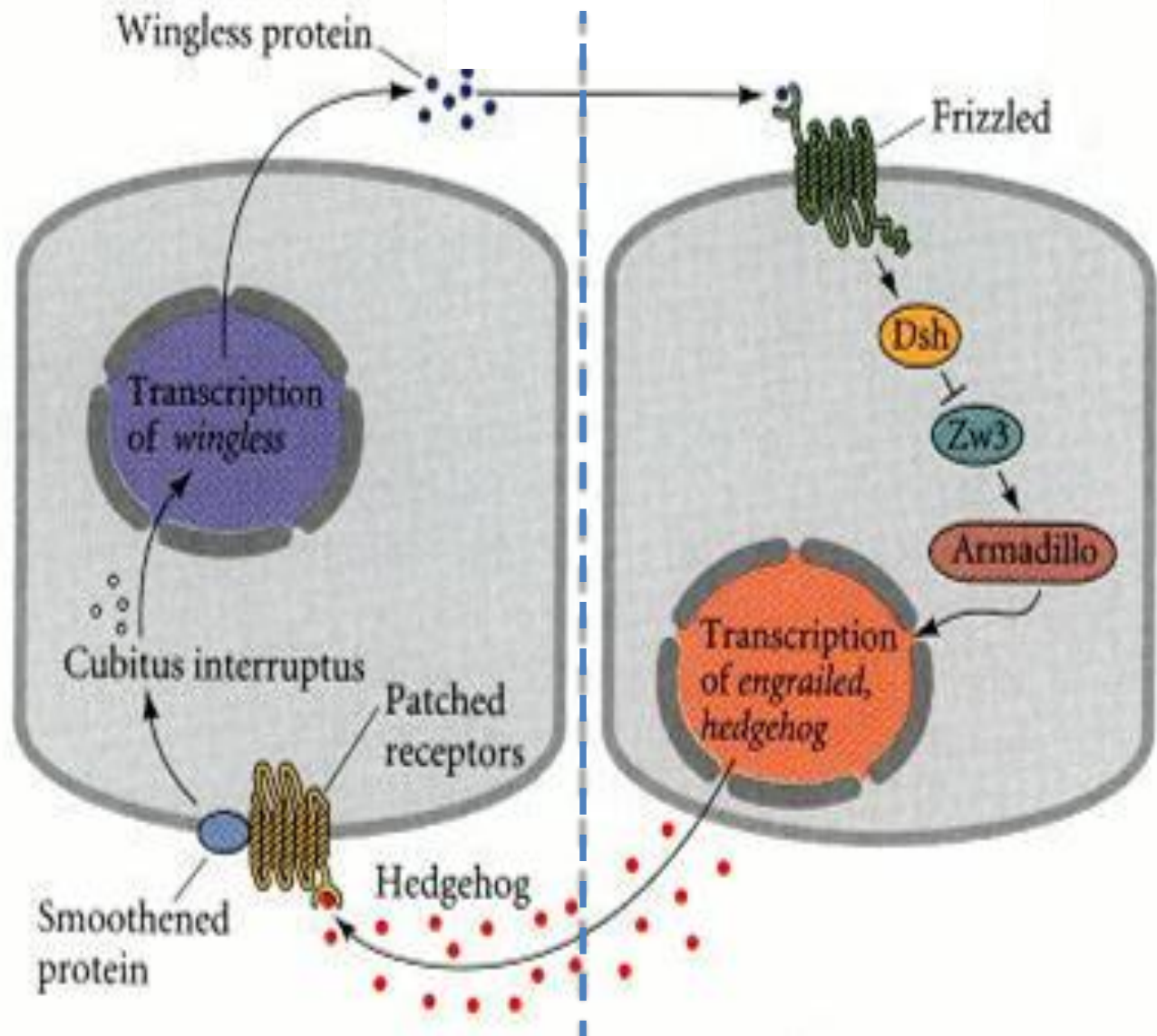
=> Formation d'une cascade de signalisation à la frontière

DS



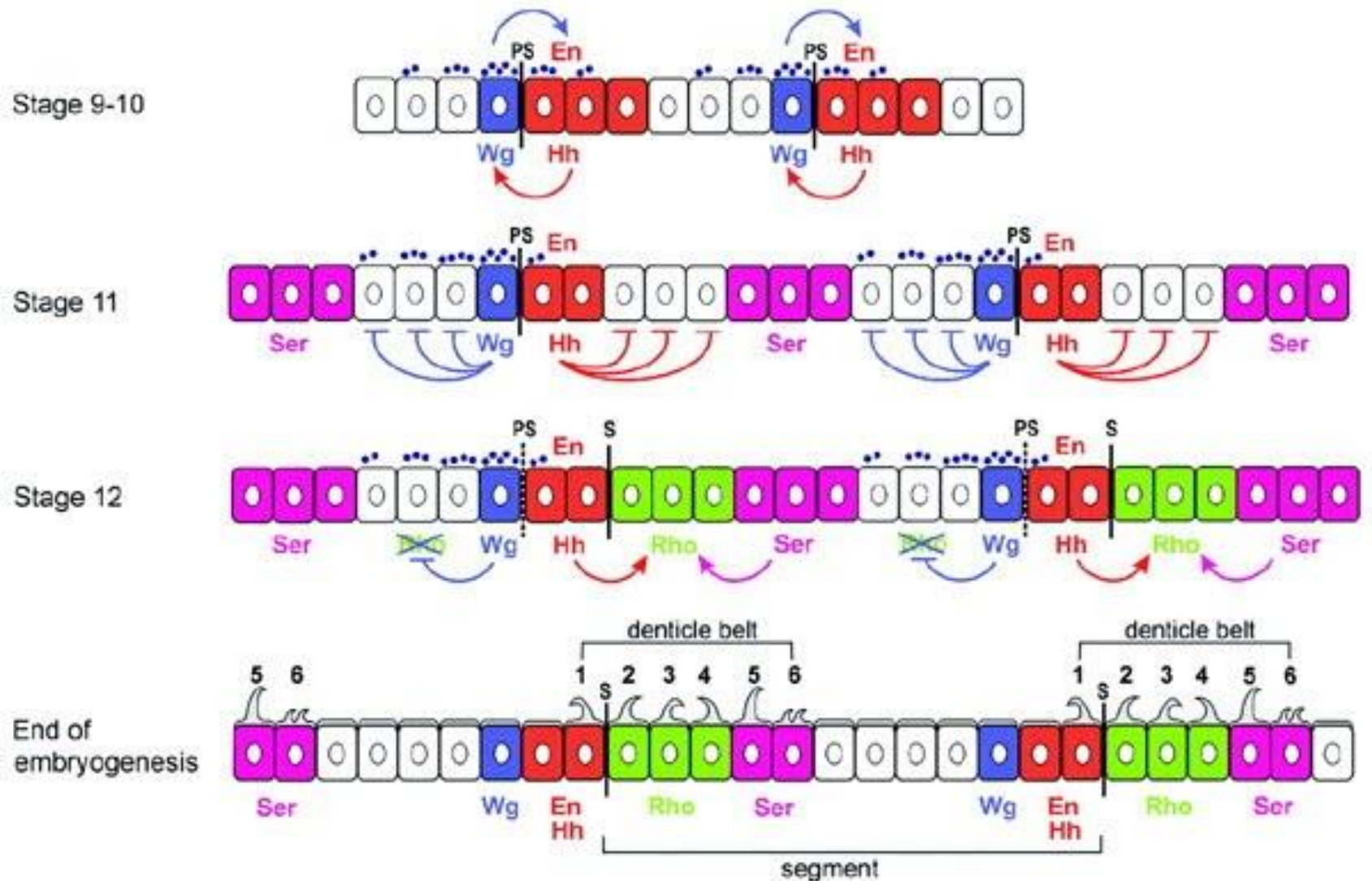
5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

=> Formation d'une cascade de signalisation à la frontière DS



5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

⇒ Formation d'une cascade de signalisation à la frontière PS
+ effet morphogène à distance => Centre organisateur



Gènes de segmentation

fx
Programme de développement et d'achèvement de l'embryon. Chaque fonction peut être affectée par un autre gène.

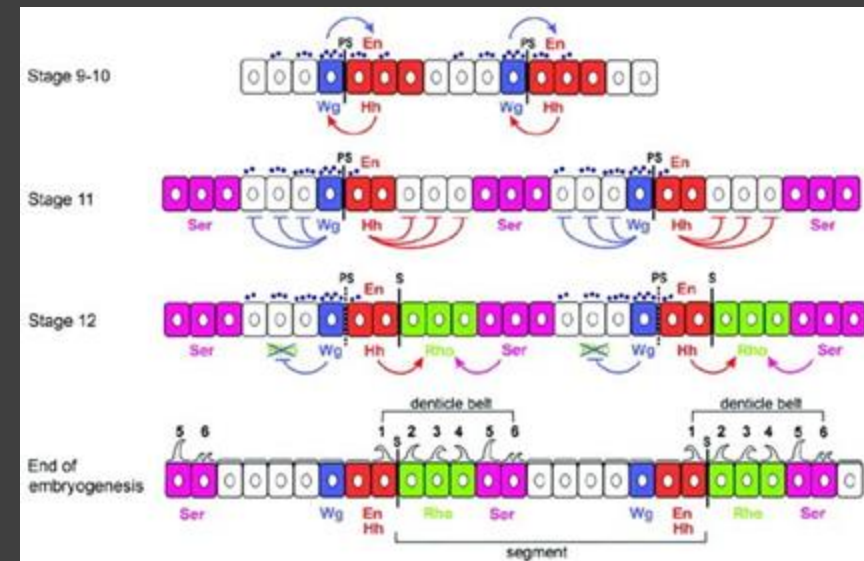
o
Contrôle des fonctions d'achèvement de l'embryon par rapport aux autres.

h
Méthode?

5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

⇒ Formation d'une cascade de signalisation à la frontière PS + effet morphogène à distance => Centre organisateur

Chaque centre organisateur *Wg/en* induit une cascade de signalisation qui conduit à la différenciation cellulaire des cellules épidermiques en fonction de leur position par rapport à la frontière parasegmentaire.

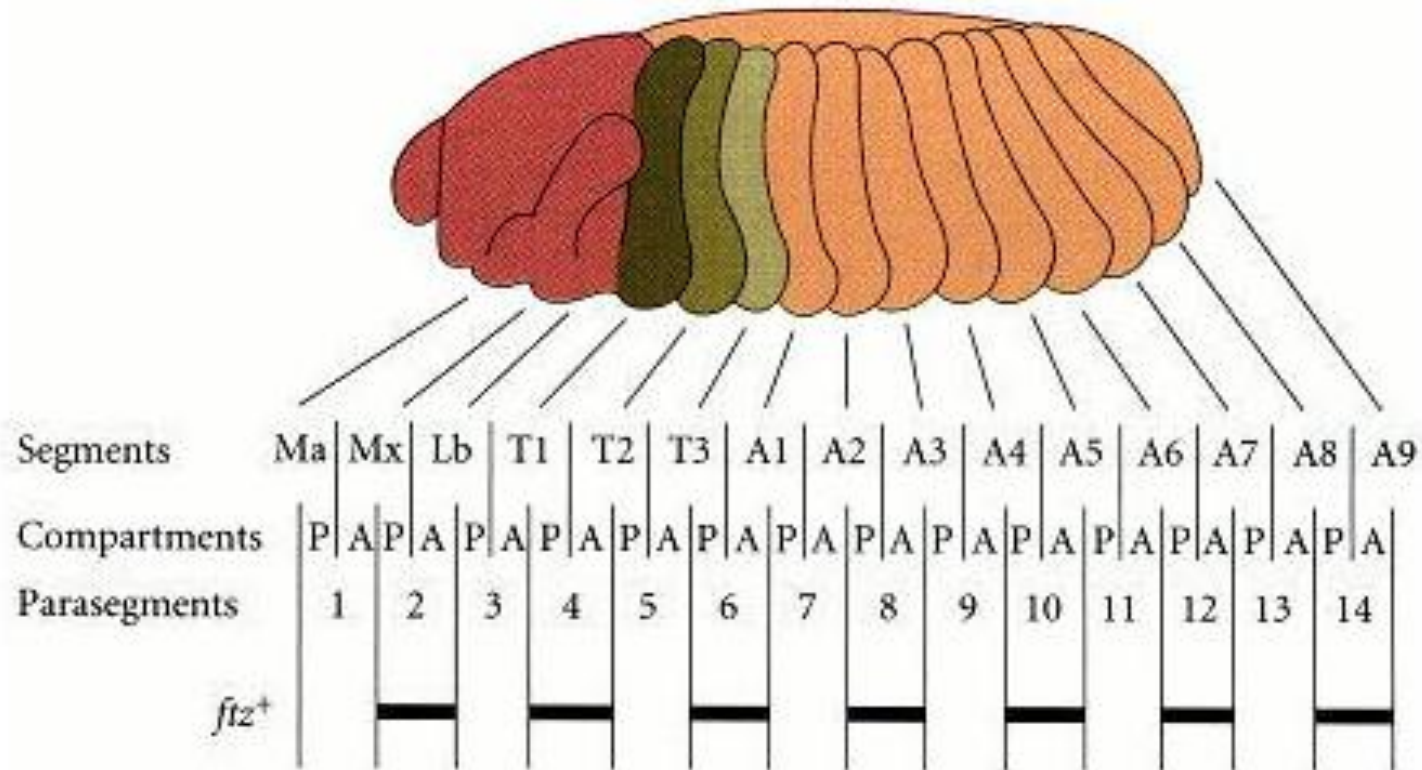




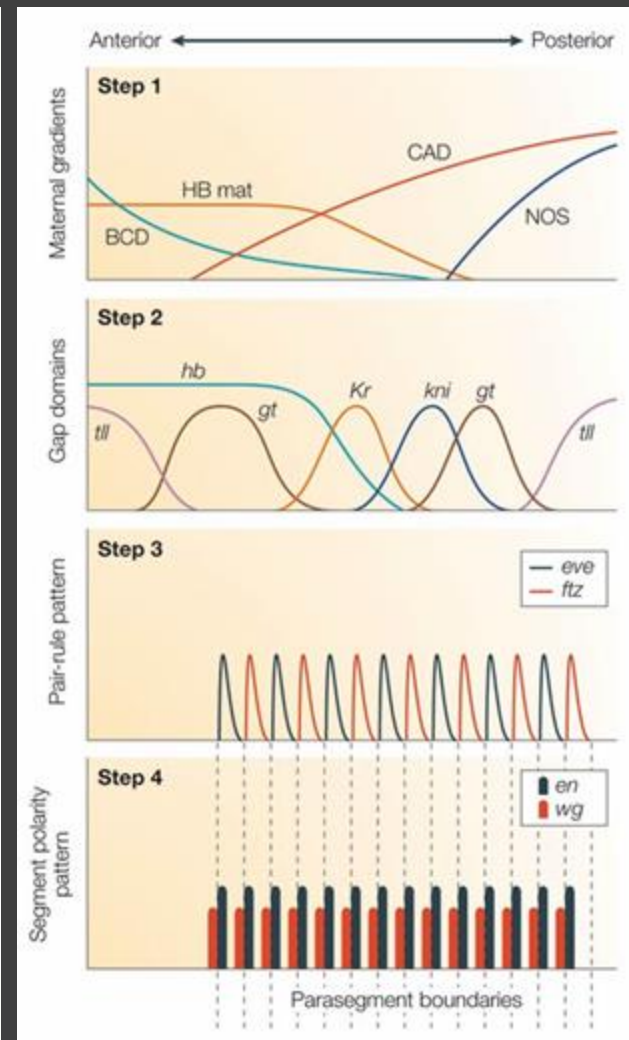
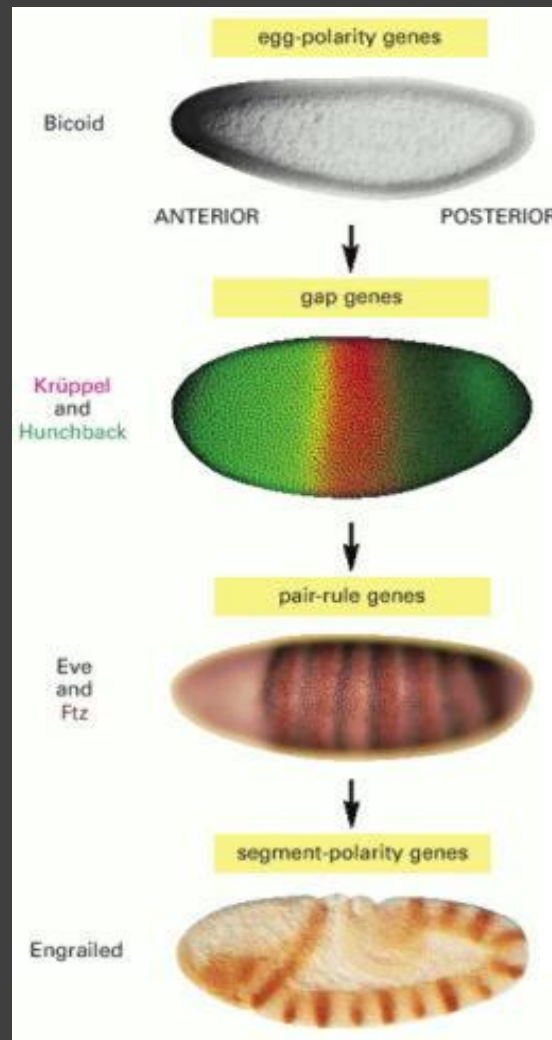
5) Régulation des gènes de polarité segmentaire

- Initiation de l'expression par les gènes Pair rule
- Maintien de l'expression par une boucle d'auto-régulation
- Mise en place d'un centre organisateur à chaque frontière parasegmentaire

Rappel aspect morphogénétique : unités anatomiques en jeu lors de la segmentation

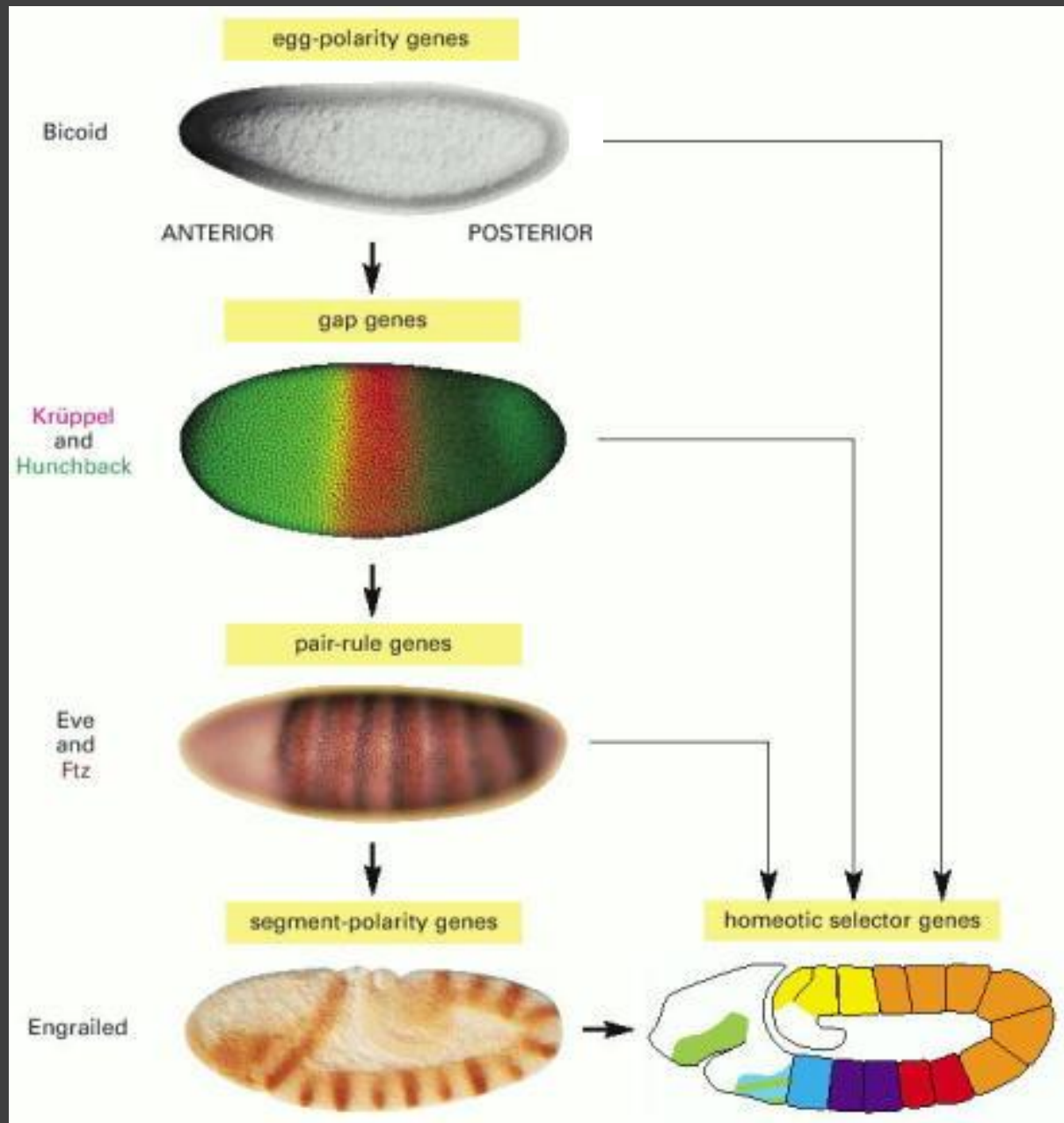


Contrôle de la segmentation par les gènes maternels et zygotiques



- Cascade de facteurs de transcription
- Mise en place de centres organisateurs aux frontières PS
- Signalisation cellulaire et morphogenèse

Suite du
programme:
Attribution
d'une identité à
chaque segment
(Cours 4)



Retenir la démarche en génétique du développement



Ordonner les fonctions (schéma)



Définir le sens +/- des interactions



Tenir compte du contexte spatial



=> interpréter les interactions
génétiques



=> tester les fonctions à l'échelle
moléculaire



Proposer un mécanisme expliquant la
segmentation moléculaire