

LES MÉCANISMES DU DÉVELOPPEMENT DU MEMBRE CHIRIDIEN DES VERTEBRES

Mise en contexte et émergence de la problématique

Arbre phylogénétique des vertébrés (annexe 1)

Les Tétrapodes forment un groupe monophylétique au sein des Vertébrés et se caractérisent par 2 paires de membres paires ne possédant qu'une seule pièce basale rattachée à la ceinture osseuse (pectorale ou pelvienne) et se terminant par des doigts, on parle de membre chiridien, mais aussi par l'apparition du cou par séparation de la ceinture scapulaire de la tête.

Les premiers Tétrapodes sont apparus vers -380 Ma au sein du groupe de Ostéichthyens Sarcoptérygiens du Dévonien.

relation entre le squelette des membres, les muscles striés squelettiques et le système nerveux volontaire, exemple de la flexion du bras lors du réflexe myotatique (annexe 2)

Les membres chiridiens sont constitués par des os articulés entre eux et mis en mouvement par la contraction des muscles striés squelettiques sous contrôle du système nerveux volontaire.

Ces membres chiridiens se forment pendant l'organogenèse ou chez les Batraciens, pendant la métamorphose.

Le développement embryonnaire est une succession d'étapes hiérarchisées :

- passage de la cellule œuf à l'état pluricellulaire lors de la segmentation
- mise en place de trois feuilletts embryonnaires lors de la gastrulation
- différenciation des tissus spécialisés au sein d'organes différenciés lors de l'organogenèse.

Mise en place du membre chiridien des Tétrapodes au cours de l'organogenèse (annexe 2)

L'organogenèse dépend de mécanismes qui sont similaires à ceux du développement précoce, par exemple l'information de position ou la migration cellulaire, cependant elle est plus complexe que le développement précoce et implique un plus grand nombre de gènes, car les organes sont composés de plusieurs types de tissus dont le développement doit être coordonné dans le temps et l'espace.

Les membres des Vertébrés, apparaissent d'abord sous la forme d'ébauches de tissu appelées bourgeons de membres.

Le développement du membre chiridien des Tétrapodes est un modèle d'étude particulièrement étudié pour plusieurs raisons :

- son organisation est simple à décrire et facile à observer et à manipuler
- ses modifications induites expérimentalement n'entraînent pas de mortalité pendant le développement embryonnaires
- les mécanismes de contrôle de son développement sont multiples et complexes mais suivent des modalités de fonctionnement pouvant être généralisées.

- *quels sont les mécanismes cellulaires responsables de la mise en place du membre chiridien au bon endroit et au bon moment ?*
 - *comment l'information de position est-elle chimiquement exprimée ? où est-elle exprimée ? quand est-elle émise et reçue ? (voir aussi SV-H-3)*

I Le membre chiridien des Tétrapode est une structure homologue

1. le membre chiridien est organisé en 3 segments articulés

organisation du membre chiridien, exemple de la souris (annexe 3)

Le membre chiridien est caractérisé par 3 segments articulés :

- le segment proximal ou stylopode qui correspond au bras (stricto sensu), comportant l'humérus, ou à la cuisse, comportant le fémur

- le segment moyen ou zeugopode (zeugo = deux) qui correspond à l'avant-bras, comportant l'ulna ou cubitus antérieur et le radius postérieur, ou à la jambe (stricto sensu), comportant le tibia et la fibula ou péroné.
- le segment distal ou autopode qui correspond à la main ou au pied. Plus complexe, il se subdivise en trois sous-régions anatomiques :
 - le basipode (proximal) qui correspond aux carpes (poignet) ou aux tarses (cheville)
 - le métapode (intermédiaire) qui correspond aux métacarpes (de la paume de la main) ou aux métatarses (de la plante du pied)
 - l'acropode qui correspond aux phalanges des doigts

définition des axes de polarité au niveau du membre chiridien (annexe 4)

Les segments sont développés selon 3 axes de polarité :

- proximo-distal : succession stylopode – zeugopode – autopode ;
- antéro-postérieur : pouce antérieur, auriculaire postérieur
- dorso-ventral : dos et paume de la main

2. le membre chiridien présente des variations

2.1 selon les ceintures au sein d'un même organisme

Variations du membre chiridien antérieur et postérieur (annexe 4)

Au sein d'un même animal, les éléments du membre chiridien montre des variations selon les ceintures, dans leur longueur, leur épaisseur mais aussi dans certains cas du nombre de doigts.

Ces variations peuvent être reliées à leurs fonctions respectives pour l'animal :

- vol, marche ou préhension pour le membre antérieur
- marche pour le membre postérieur ± adapté à la course

2.2 selon les espèces

variations du membre chiridien selon de groupe et l'espèce (annexe 4)

En relation avec le mode de locomotion du taxon considéré, marche, course, vol ou nage, les 3 segments du membre tétrapode peuvent présenter des variations.

Néanmoins, tous ces membres malgré leur diversité présente un même plan d'organisation commun, il s'agit donc de structures homologues.

II Les éléments du membre chiridien se développent de façon polarisée grâce à des gènes homéotiques, les gènes Hox

1. positionnement et identité des membres selon l'axe antéro-postérieur du corps

positionnement des membres à des jonctions vertébrales selon l'axe antéro-postérieur(annexe 4)

Les membres antérieurs sont systématiquement localisés à la jonction entre les vertèbres cervicales et thoraciques et les membres postérieurs sont systématiquement localisés à la jonction entre les vertèbres lombaires et sacrées.

Le membre chiridien est donc induit à une position précise selon l'axe antéro-postérieur et on peut en conclure qu'il existe une activation de gènes responsables du développement au bon endroit. Cela correspond à des gènes homéotiques. Une mutation homéotique est l'apparition d'un organe bien formé, mais à un mauvais emplacement du corps.

Observation des conséquences de la mutation antennapedia chez la drosophile (annexe 5)

Les gènes homéotiques ou gènes architectes ont initialement été découverts chez la Drosophile, grâce à l'étude de mutants qui présentaient des modifications de la position de certaines structures le long de l'axe antéro-postérieur.

principe de colinéarité des gènes homéotiques (année 5)

Des homologues de ces gènes ont été découverts par la suite chez tous les animaux, on les nomme gènes Hox.

L'identité de position le long de l'axe antéro-postérieur est déterminée par l'expression de ces gènes homéotiques et il existe une colinéarité entre la position des gènes le long d'un axe 3'5' sur le chromosome et leur profil d'expression spatio-temporel dans l'embryon le long de l'axe antéro-postérieur.

Les gènes en position 3' s'expriment précocement et plus ou moins tout le long de l'axe antéro-postérieur tandis que les gènes situés en aval s'expriment plus tardivement et dans des positions plus postérieures.

Ainsi les segments de l'organisme en position postérieure expriment dans le temps davantage de gènes homéotiques que les régions antérieures ce qui donne une information de position aux cellules concernées.

En conclusion, c'est la combinaison de gènes homéotiques Hox exprimés à une position donnée qui détermine l'identité spatiale du tissu et sa différenciation.

l'homéodomaine des protéines codées par les homéogènes permet la liaison à l'ADN (annexe 5)

Les gènes Hox présentent tous une séquence identique de 180 nucléotides dans leur séquence : l'homéoboîte (ou « homeobox » en anglais) qui code pour un site de liaison à l'ADN appelé homéodomaine, de 60 acides aminés, grâce à un motif hélice-boucle-hélice.

les gènes Hox chez les animaux dérivent d'un gène ancestral unique (annexe 6)

On en conclut qu'ils résultent de l'amplification d'un gène ancestral unique.

Remarque : Les gènes à homéoboîte forment une famille multigénique, les gènes homéotiques en sont une sous-famille, et les gènes Hox des animaux constituent encore un sous-ensemble homogène de la famille des gènes homéotiques.

Rappel : On trouve également chez les végétaux, des gènes homéotiques ABCDE, déterminant la mise en place des différents verticilles de pièces florales : sépales, pétales, carpelle, étamines...

Les complexes de gènes homéotiques Hox chez l'Homme et leur séquence d'expression comparée à la drosophile(annexe 7)

Chez les vertébrés, dont l'espèce humaine, les gènes Hox sont positionnés sur 4 chromosomes formant ainsi 4 groupes dits groupes Hox ou complexes Hox.

Dans chaque complexe Hox, l'ordre des gènes dans l'ADN de 3' à 5', est celui dans lequel les gènes s'expriment le long de l'axe antéro-postérieur et qui spécifie les identités régionales.

C'est la règle de colinéarité des gènes homéotiques

Les gènes qui se correspondent dans les différents complexes (par exemple HoxA4 , HoxB4 , HoxC4 et HoxD4) sont dits gènes paralogues et forment des sous-complexes.

Chez la souris et l'espèce humaine, il existe 13 sous-complexes de gènes paralogues. Ces derniers sont des facteurs de transcription de type TRANS qui s'expriment en cascade.

Corrélation entre l'expression du gène Hox6 et la position du membre antérieur selon l'axe antéro-postérieur annexe 7)

L'expression du gène Hoxc6 est associée au développement du membre antérieur. Son expression est donc le signal de position du membre antérieur.

Observation de l'expression des gènes Hox b4, Hox b7 et Hox b9 par GFP (à gauche) et par hybridation in situ (à droite). Annexe 7

Le programme de développement du membre chiridien antérieur est induit par l'expression localisée de gènes homéotiques Hox4, Hox5, Hox6. Celui du membre chiridien postérieur est induit par l'expression localisée de gènes homéotiques Hox8, Hox9 Hox10 et Hox11.

2. Une deuxième vague d'expression des gènes Hox intervient l'identité des segments du membre chiridien selon l'axe proximo-distal

**position des gènes Hox sur un chromosome et le segment du membre dans lequel il s'exprime
(annexe 8)**

Phénotypes des membres antérieurs de souris invalidées pour plusieurs gènes Hox

Pendant, le développement du bourgeon du membre, on peut observer une 2^e vague d'expression des gènes Hox dans le bourgeon lui-même qui permet de déterminer la position des 3 segments du membre chiridien : stylopode, zeugopode et autopode, dans l'axe proximo-distal.

Là encore, on observe une expression spatiale et temporelle des gènes Hox, dans chaque complexe Hox, l'ordre des gènes selon leur position sur l'ADN de 3' à 5', est celui dans lequel les gènes s'expriment le long de l'axe proximo-distal du membre chiridien et qui spécifie les identités régionales.

L'inactivation de certains gènes Hox par délétion ou mutation (Hox11, et Hox13) se traduit par une absence du segment de membre en position corrélée sur la constitution sauvage du membre, par exemple, l'absence d'expression des Hox du bloc 11 se manifeste par une absence de zeugopode

Conclusion