

SV-H Mécanismes du développement : exemple du développement du membre des Tétrapodes

SV-H-1 Les étapes du développement embryonnaire chez les Vertébrés



SV-H Mécanismes du développement : exemple du développement du membre des Tétrapodes

SV-H-1 Les étapes du développement embryonnaire chez les Vertébrés

Le développement embryonnaire débute à la fécondation et s'achève lors de l'éclosion ou de la naissance. Plusieurs étapes conduisent à la formation d'un organisme présentant les caractéristiques morphologiques et anatomiques de son espèce :

- segmentation
- gastrulation
- neurulation
- organogenèse.

Ces différentes étapes mettent en jeu des processus cellulaires tels que la prolifération (mitose), les changements de forme et la mobilité de cellules ou d'ensemble de cellules, la différenciation et la mort cellulaire programmée.

Au cours de la gastrulation, trois feuillets cellulaires primordiaux (ectoderme, mésoderme, endoderme) sont mis en place. Ces feuillets génèrent tous les tissus somatiques de l'organisme.

- Identifier sur des embryons in toto et des coupes, les différents stades de développement embryonnaire.
- Exploiter des données de marquage pour
 - définir le concept de lignage cellulaire ;
 - caractériser les mouvements cellulaires au cours de la gastrulation.

Précisions et limites :

L'analyse des différentes étapes du développement embryonnaire est conduite sur des échantillons d'Amphibien.

Seules les quatre étapes du développement embryonnaire avec leurs principales caractéristiques macroscopiques et cellulaires sont à retenir. Les mécanismes cellulaires et moléculaires ne sont pas exigibles dans cette partie.

Développement d'un organisme animal = ensemble des étapes et des mécanismes qui conduisent à la formation d'un organisme pluricellulaire adulte à partir d'une unique cellule-œuf ou zygote.

Développement embryonnaire (DE) de vertébré : Fécondation → Éclosion (ovipares) ou Naissance (vivipares).

Développement direct : forme adulte de l'animal acquise dès la fin du DE, même si le juvénile issu n'a pas fini sa croissance et n'a pas acquis sa maturité.

Développement indirect : DE produit une larve, dont l'organisation est différente de celle de l'adulte. Forme adulte acquise après le DPE qui inclut une étape de métamorphose.

Amphibiens : développement indirect : DE produit une larve, le têtard, que la métamorphose transforme en jeune grenouille.

DE = différentes étapes qui se déroulent en continuité, mais que les biologistes distinguent car elles sont chacune marquées par des événements caractéristiques.

DE = passage de l'état unicellulaire à un état pluricellulaire (tissus et d'organes).

DE = succession d'étapes contrôlées dans l'espace et dans le temps aboutissant à un plan d'organisation commun aux vertébrés.

Étapes nécessitent :

- prolifération (mitose),
- changements de forme et déplacements de cellules et de tissus,
- communications intercellulaires,
- détermination et différenciation cellulaires.

Quels sont les principales étapes du développement embryonnaire et les processus cellulaires associés ?

Comment à partir des 3 feuillets embryonnaires se mettent en place les différents tissus de l'organisme ?

INTRODUCTION

I- DE LA CELLULE FECONDABLE (OVOCYTE II) A LA CELLULE ZYGOTIQUE

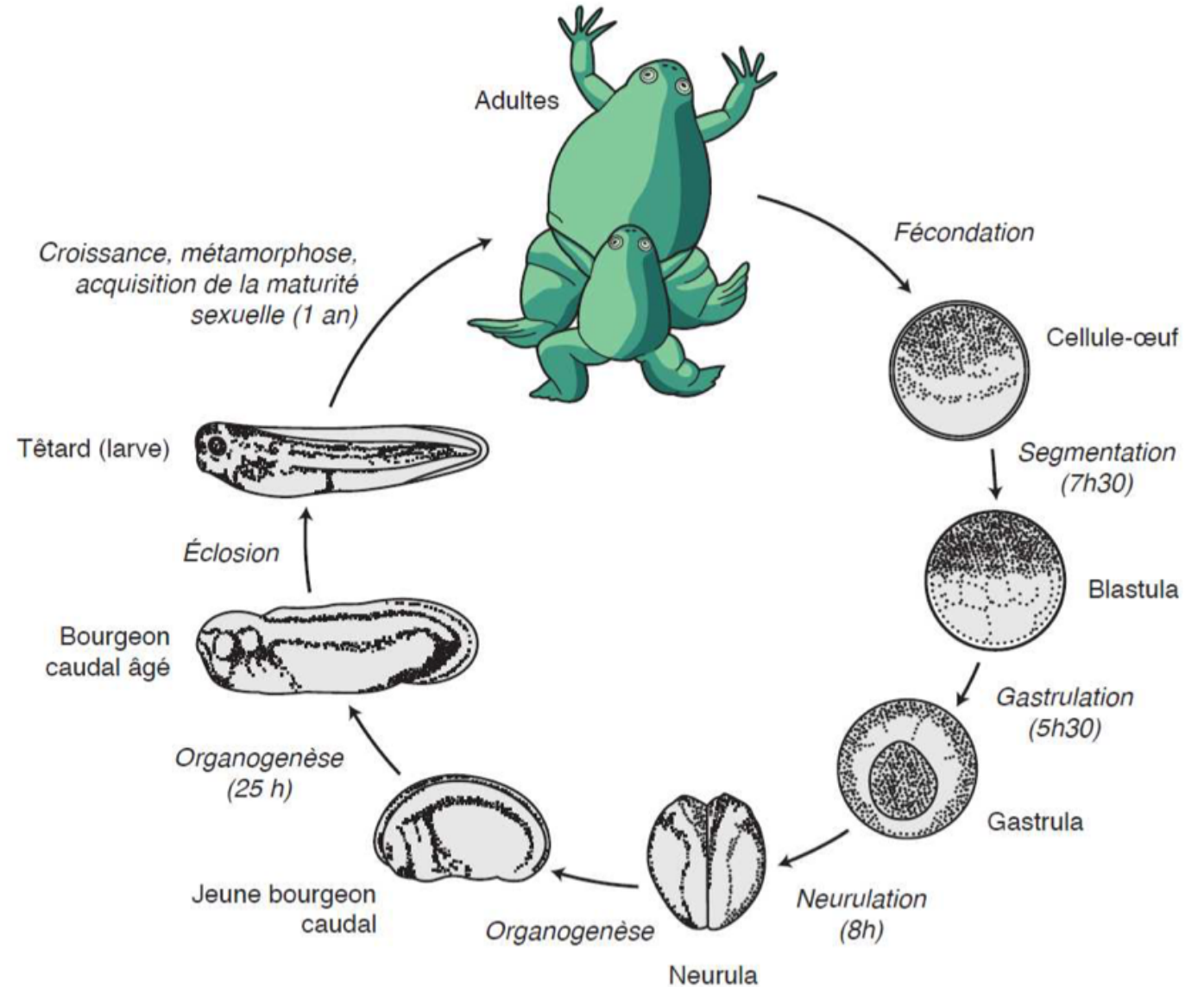
II- LA SEGMENTATION : ACQUISITION DE L'ETAT PLURICELLULAIRE

**III-LA GASTRULATION : MOUVEMENTS MORPHOGENETIQUES ET
POSITIONNEMENT DES TROIS FEUILLETS EMBRYONNAIRES A L'ORIGINE DE
L'ETAT TRIBLASTIQUE**

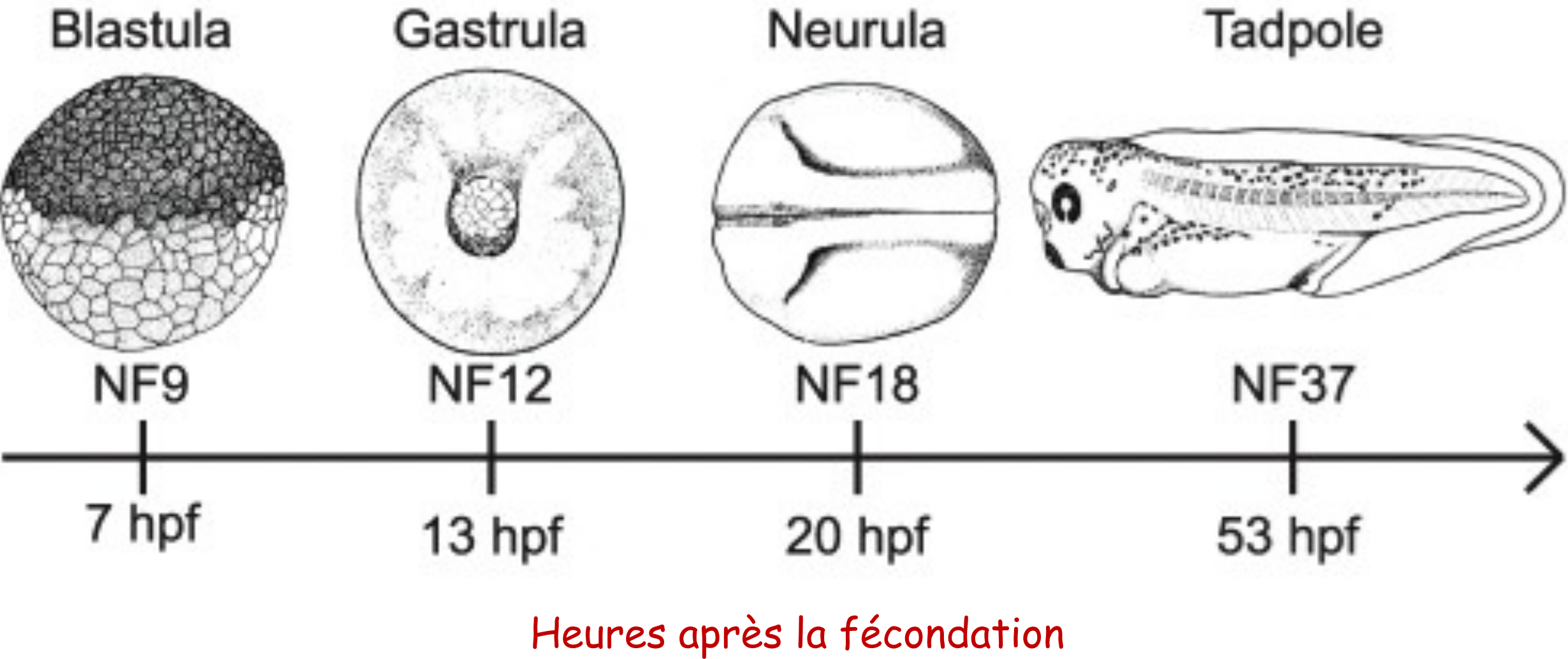
**IV- L'ORGANOGENESE : MISE EN PLACE DES TISSUS, DES ORGANES ET
ACHEVEMENT DU PLAN D'ORGANISATION**

CONCLUSION

**DE 1a : Représentation
schématique du cycle de
reproduction et de développement
(DE + DPE) des amphibiens**



DE 1b : La chronologie du développement d'un xénope, depuis la blastula jusqu'au têtard (*tadpole en anglais*). NF9 à 37 désignent les stades standardisés du développement du xénope, utilisés par les embryologistes. hpf signifie « hour post fécondation » i.e heures après la fécondation. **DE terminé à peine plus de 2 jours après la fécondation**, ce qui est très rapide. D'après Schneider et al., 2011



I- DE LA CELLULE FECONDABLE (OVOCYTE II) A LA CELLULE ZYGOTIQUE

I.1. Observations avant la fécondation

I.2. L'ovocyte II : une cellule polarisée à symétrie radiaire

I.3. La fécondation : acquisition de l'état diploïde et passage à une symétrie bilatérale

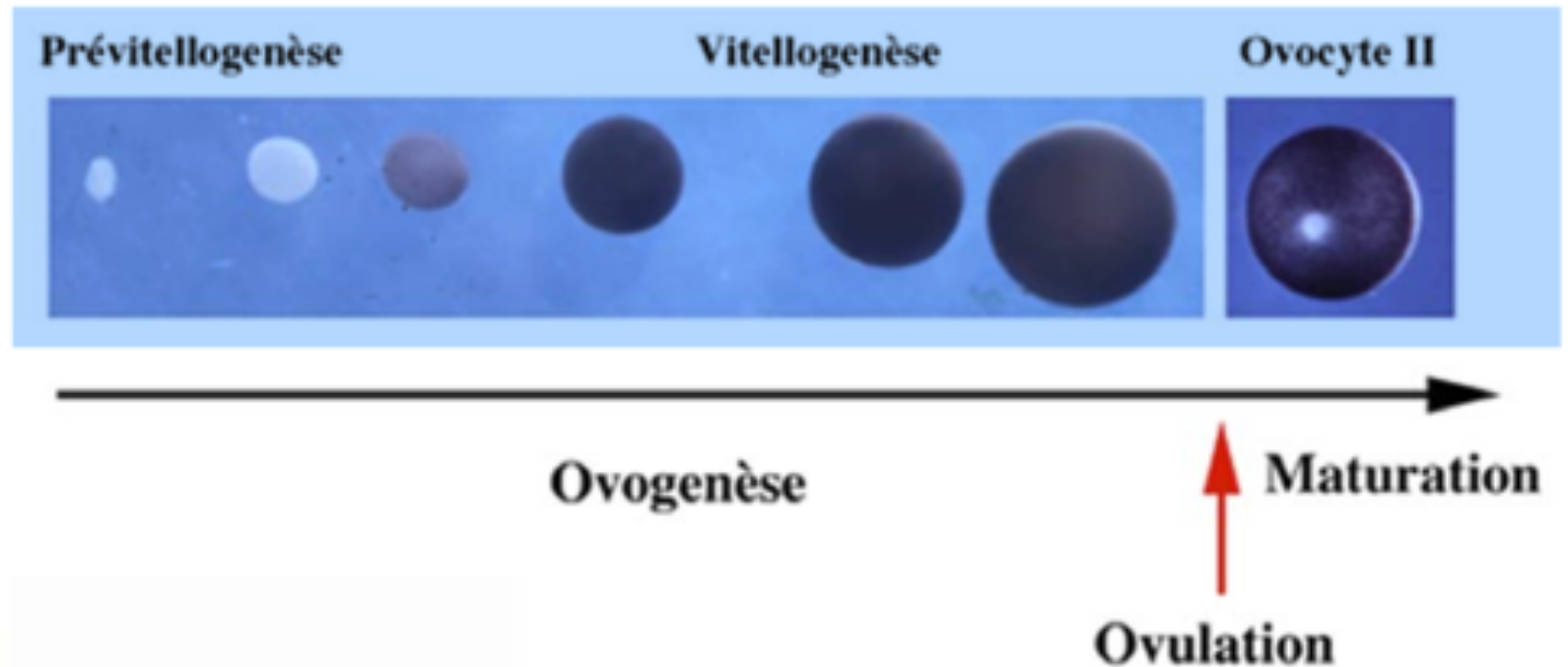
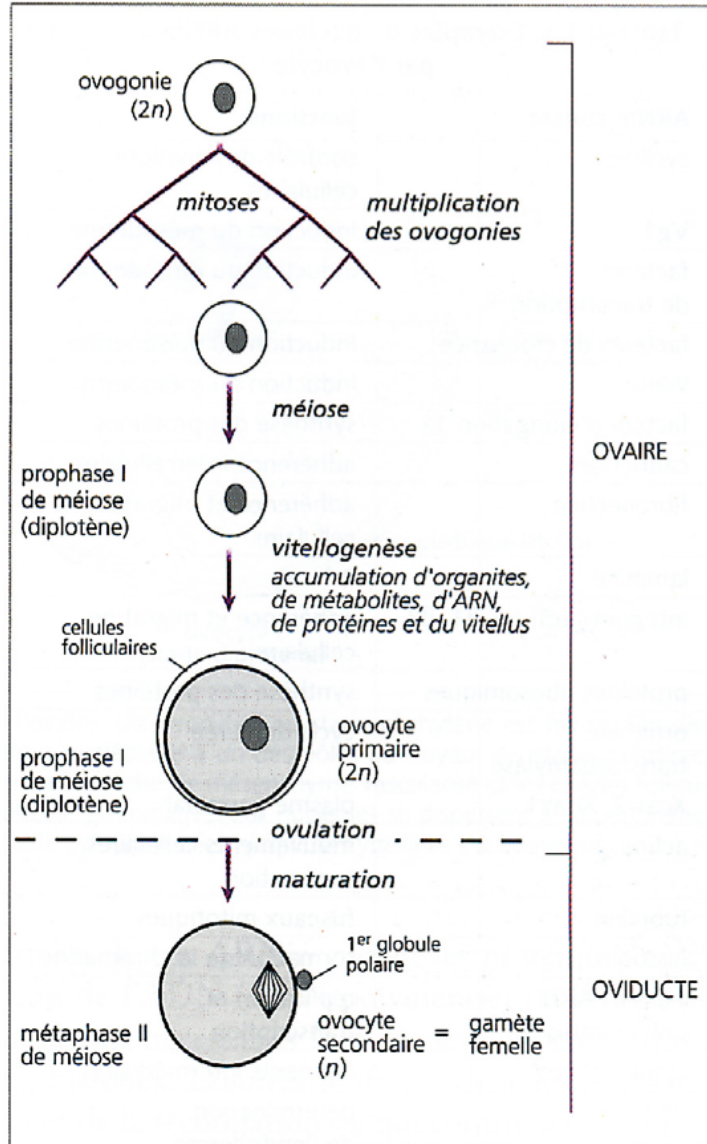
I.3.1. Le rétablissement de la diploïdie

I.3.2. La rotation d'équilibration et le blocage de la polyspermie

I.3.3. La rotation de symétrisation et l'acquisition d'un axe de polarité dorso-ventral

DE 2 : L'ovogenèse chez les amphibiens

Activité mitotique intense des ovogonies qui assure le renouvellement des futurs ovocytes et 1^{ère} division de méiose dans l'ovaire → obtention d'un ovocyte I^{aire} bloqué en prophase I de méiose (diplotène).
Diamètre de l'ovocyte I : 1,2 millimètre en moyenne

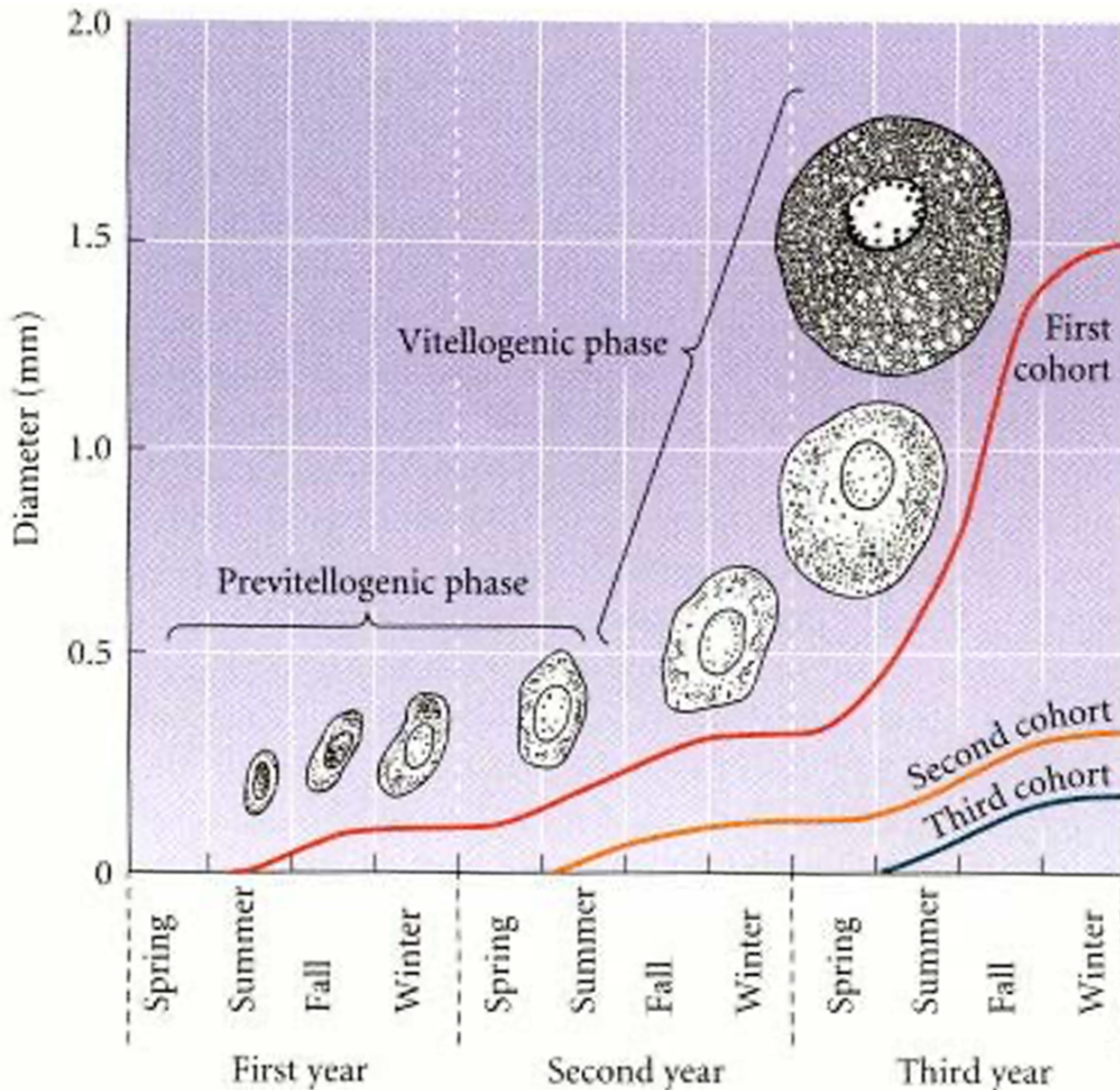


DE 2 : L'ovogenèse chez les amphibiens

Activité mitotique saisonnière

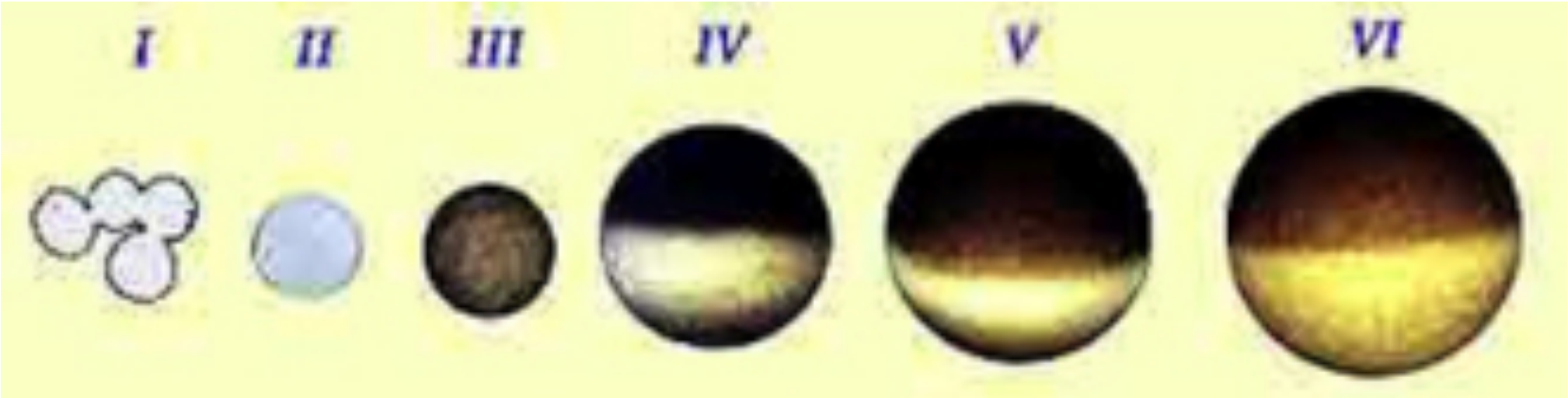
Mitoses après chaque ponte qui reconstituent un lot d'ovocytes (cohortes)

Des « nids d'ovogonies » quiescentes subsistent en permanence dans les ovaires de la femelle adulte.



DE 3 : Observations : constitution des réserves informatives et nutritionnelles pendant la phase d'accroissement de l'ovocyte I

**DE3a : La croissance
de l'ovocyte Iaire
(1,5 à 2 mois)**



Stade I : Les ovogonies cessent toute activité mitotique → ovocyte translucide de qq μm de diamètre, dans lequel la 1^{ère} division de méiose est entamée.

Stade II : Opacification du cytoplasme, diamètre augmente = accumulation des premières réserves nutritives.

Stade III : Le cytoplasme se charge de granules pigmentaires répartis sur toute la surface de l'ovocyte.

Stade IV : Le pigment se régionalise et génère une anisotropie apparente : hémisphère animal vs hémisphère végétatif.

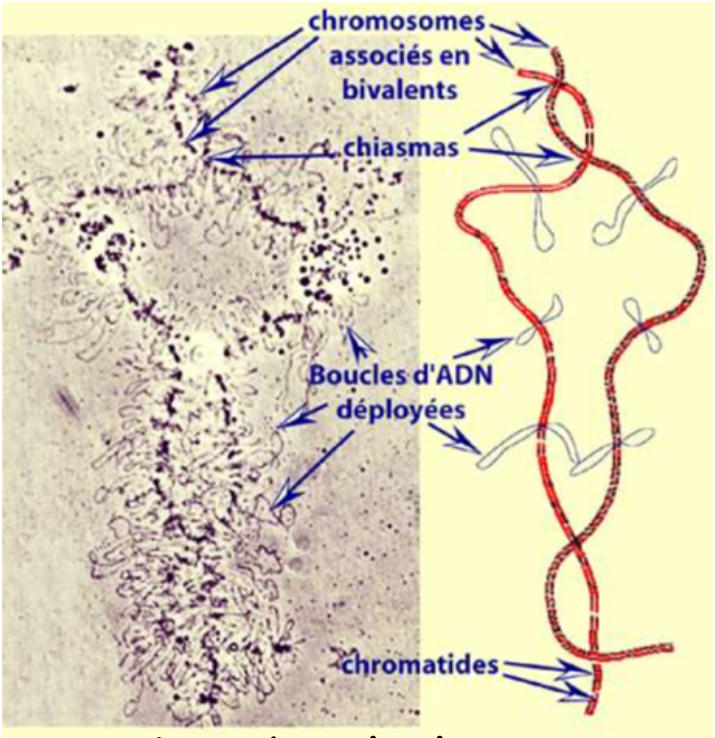
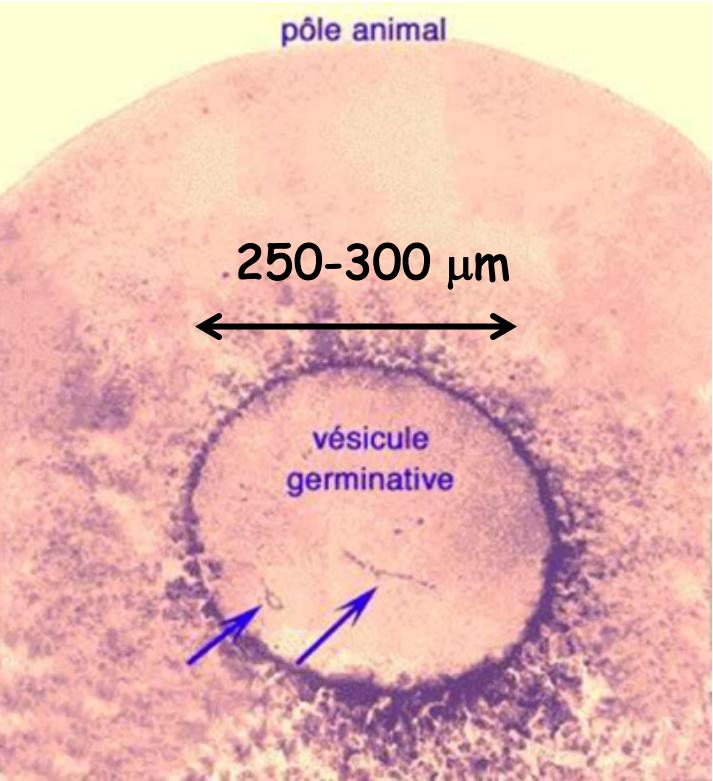
Stade V et VI : L'ovocyte I arrive au terme de sa croissance. Au stade VI, diamètre de l'ordre de 1 à 1,4 mm.

Détail des stades à ne pas mémoriser

DE3b : La synthèse des ARN

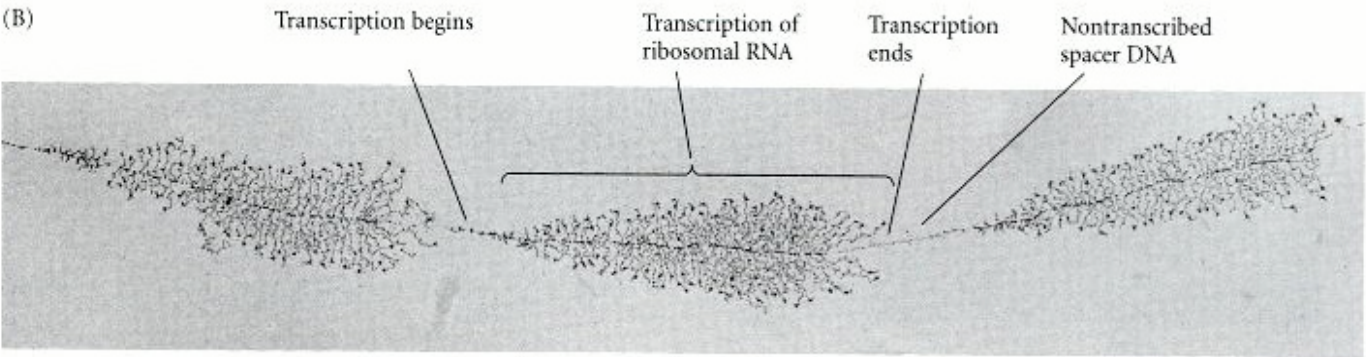
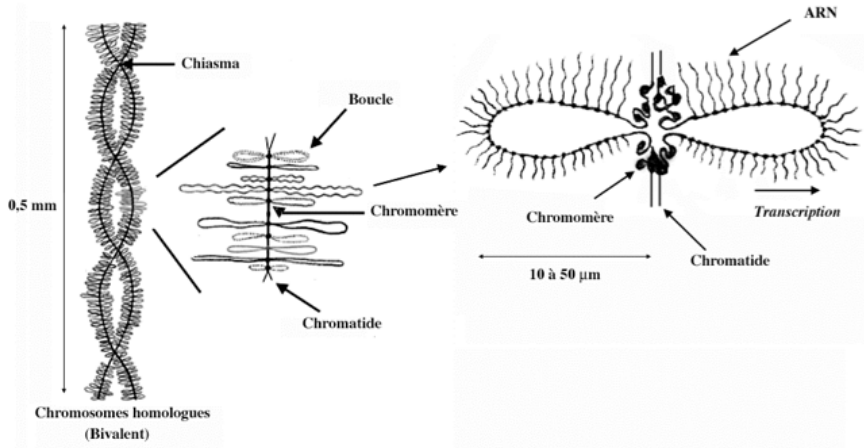
Noyau = **vésicule germinative**, très volumineux.

Quelques segments de bivalents chromosomiques (flèches) : prophase I de méiose (stade diplotène)



Lampbrush chromosm

2 CHR en écouvillon appariés (chiasmata : régions des CO). Chaque chr comporte 2 chromatides portant des boucles d'ADN déployées = **zone de transcription active**.



Deux modalités de stockage cytoplasmique des ARNm :

- Soit, les ARNm sont exportés dans l'ensemble du cytoplasme puis régionalisés au cours de l'ovogenèse. Ex : facteur de transcription VegT ; facteur de croissance Vg1.
- Soit, ils sont confiés à une structure sub-cellulaire appelée le nuage mitochondrial dès leur sortie du noyau, puis acheminés au pôle végétatif de l'ovocyte : ARNm messagers impliqués dans la formation de la lignée germinale tel que le gène XCat.

Dans l'ovocyte : transcription des ARN m + ARN ribosomiques.

Extraction de la vésicule germinative d'un ovocyte I et coloration au bleu de méthylène suivie de lavage : mise en évidence de nombreux nucléoles (2 par cellule diploïde normalement): **synthèse active d'ARN ribosomique** par l'amplification sélective des gènes ribosomiques qui multiplie par 1 000 la capacité de l'ovocyte à produire des ARNr.

Stockage de la majeure partie de ces transcrits dans la vésicule germinative
→ augmentation de volume.

Libération dans le cytoplasme lors de la rupture de la vésicule germinative pendant la maturation.

Bilan

L'intense activité transcriptionnelle des ARNr + taille exceptionnelle des chromosomes → taille importante de la vésicule germinative (250 à 300 μm)

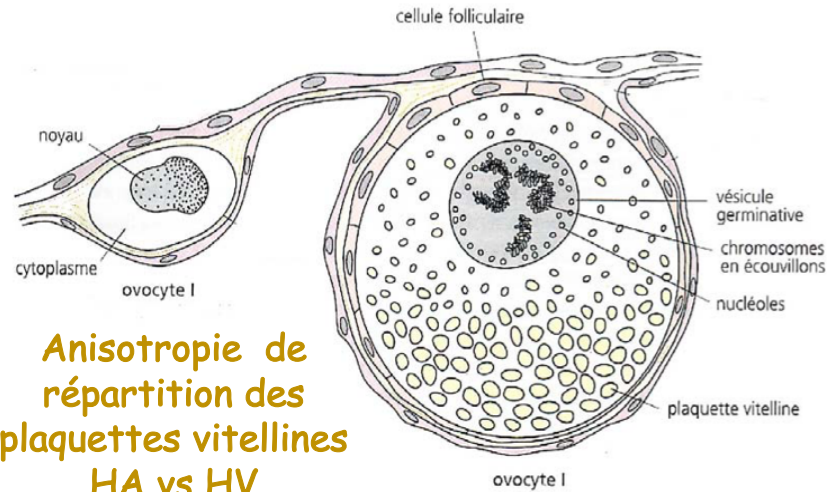
DE 3c : L'accumulation de réserves nutritionnelles

Vitellogénine transmise à l'ovaire par voie sanguine. Incorporation par cell folliculaires puis transmission à l'ovocyte via des récepteurs membranaires initiateurs de l'endocytose.

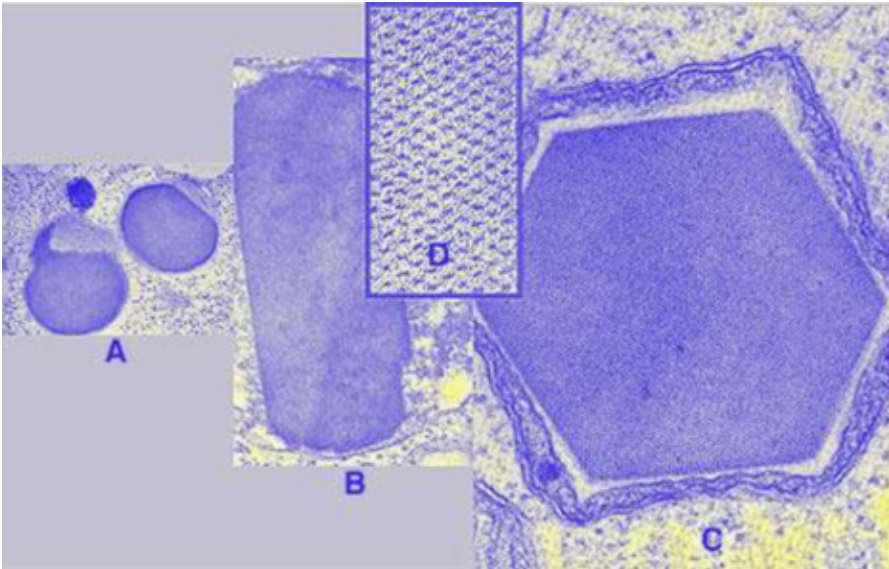
Les vésicules d'endocytose s'associent à des vésicules lysosomiales. Une enzyme protéolytique, la cathepsine D clive la vitellogénine en deux protéines différentes, la lipovitelline et la phosvitine.

Les deux protéines sont alors assemblées en réseau qui croît et forme un grain ou granule ou encore une plaquette vitelline (Fig B,C) quasi cristalline (Fig D).

Croissance des plaquettes vitellines à partir des vésicules de pinocytose (A à C).
D : organisation cristalline d'une plaquette vitelline (assemblage des protéines et des lipides en agrégats)



Anisotropie de répartition des plaquettes vitellines
HA vs HV



Accumulation cytoplasmique des grains de vitellus à partir du lieu d'endocytose.

Régionalisation de leur répartition en fonction de leur taille → anisotropie : petites plaquettes vitellines dans HA et les grandes dans HV.

Cette polarité contribue au positionnement de la vésicule germinative dans l'hémisphère animal (plaquettes plus petites et moins denses).

Vitellus = réserves qui seront dégradées durant embryogenèse et organogenèse → autonomie énergétique des cellules embryonnaires.

Remontée de la vésicule germinative → trace plus claire = tache de maturation. Au centre de un point sombre marque l'emplacement de la métaphase de deuxième division méiotique.

I- DE LA CELLULE FECONDABLE (OVOCYTE II) A LA CELLULE ZYGOTIQUE

I.1. Observations avant la fécondation

I.2. L'ovocyte II : une cellule polarisée à symétrie radiaire

Parallèlement à la maturation, la progestérone → dissociation des cellules folliculaires → expulsion de l'ovocyte II dans la cavité générale de la grenouille = **ovulation**.

Des mouvements ciliaires acheminent les ovocytes II vers l'oviducte où ils s'engagent par le pavillon de l'oviducte ou ostium. Durant leur transit dans l'oviducte, les **ovocytes sont entourés de plusieurs couches de gangues mucilagineuses**.

Le stimulus hormonal de la maturation déclenche la **reprise de la première division de méiose**. La **cytodiérèse inégale** de la 1ère division méiotique forme :

- Le 1^{er} globule polaire, cellule de petite taille localisée entre la membrane plasmique et les enveloppes externes de l'ovocyte. Dépourvu de réserves, il dégénérera.
- L'ovocyte II, cellule qui garde l'essentiel des réserves informationnelles et nutritives.

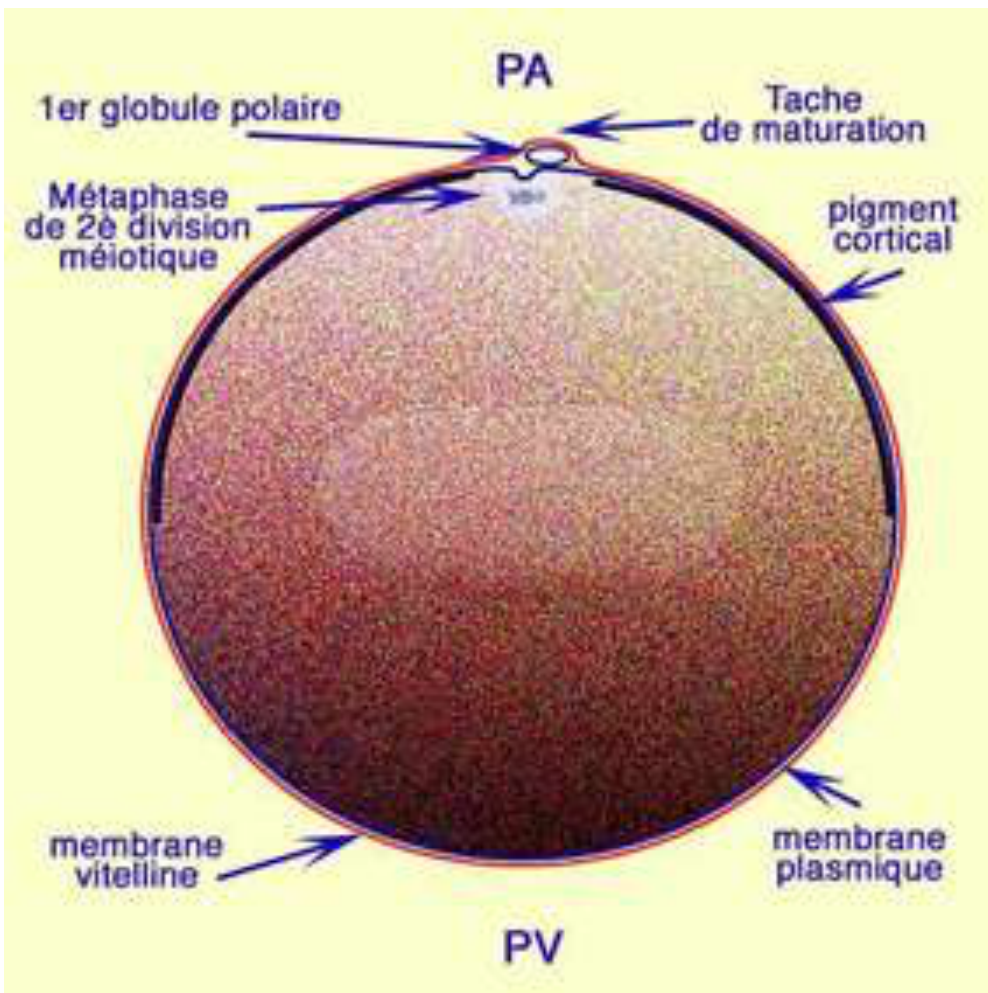
1ère division réductionnelle suivie immédiatement par la 2ème division équationnelle et blocage en **métaphase de 2ème division de méiose**. Contrairement à l'ovocyte I, l'ovocyte II est fécondable.

Stimulus hormonal de la maturation → reprise de la première division de méiose → expulsion du GP1 (env 1,5 h après la reprise de la méiose).

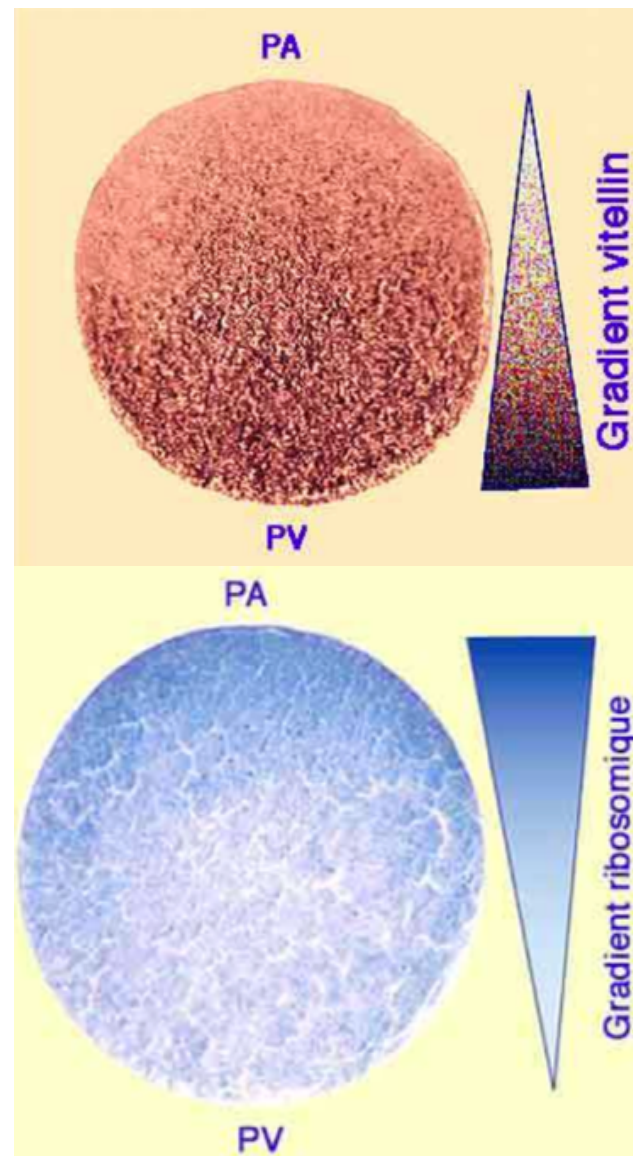
1ere division réductionnelle suivie immédiatement par la 2nd division équationnelle.

Parallèlement cet ovocyte II ainsi formé est pondé et reste bloqué à son tour au stade de la métaphase de 2ème division de méiose. Il est fécondable.

La fusion avec le spz → reprise de la méiose avec l'émission du GP2.



DE 4 : Coupe méridienne de l'ovocyte II des amphibiens



On observe une nette différence de charge en vitellus entre le pôle animal et le pôle végétatif

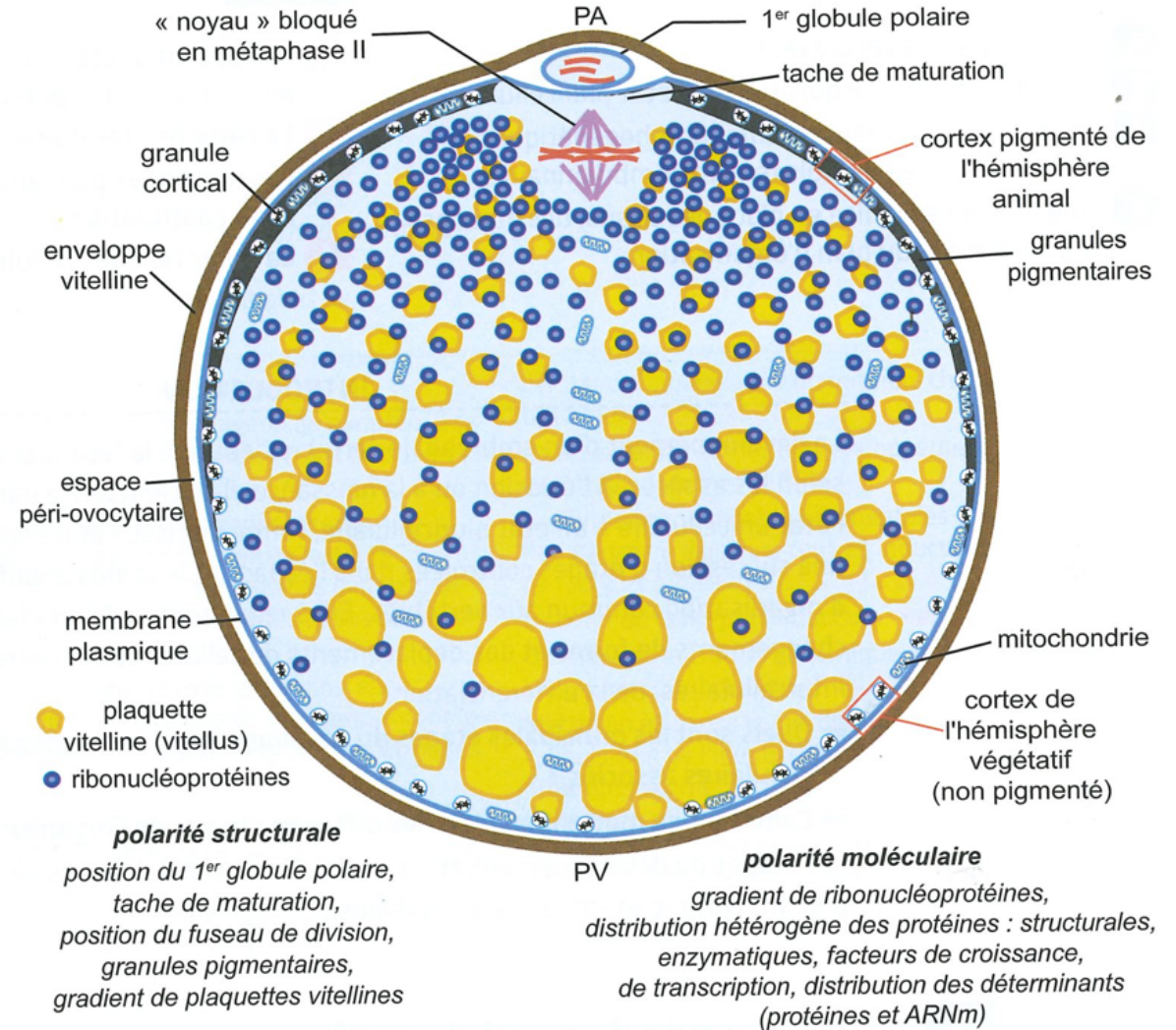
Répartition des ARN (coloration par le bleu de toluidine). La majeure partie des ARN cytoplasmiques étant ribosomiques, la coloration reflète le gradient ribosomique.

DE 4 : Coupe schématique de l'ovocyte II des amphibiens

Symétrie radiaire + polarité structurale et moléculaire PA-PV.

- Hémisphère animal pigmenté (côté GP1): tache de maturation + fuseau de division (n chr à 2 chromatides) et hémisphère végétatif non pigmenté.
- 2 gradients opposés de protéines et d'ARN associés à des protéines, ou ribonucléoprotéines.

Ovocyte II hétérolécithe : réserves moyennement abondantes, réparties de façon hétérogène avec présence de gradients.



Spermatogenèse et ovogenèse : réduction chromatique (méiose) formant des gamètes haploïdes originaux (brassages génétiques) MAIS

Spermatogenèse : 1 spermatogonie → 4 spz

Ovogenèse : 1 ovogonie → 1 ovocyte II et 2 GP inutiles pour la reproduction.

Ovocyte II = cellule quiescente, spécialisée possédant :

Génome haploïde (n chr à 2 chromatides disposés sur un plan équatorial de division) bloquée en métaphase II de méiose.

Cytoplasme riche en :

- réserves énergétiques,
- réserves en molécules informatives d'origine maternelles, importantes pour la suite du développement.

Réserves distribuées de façon polarisée.

Vitellus : gradient croissant du PA au PV.

ARNt et ribosomes : gradient décroissant du PA au PV.

Vitellus de nature glucidique (glycogène), lipidique (triglycérides et phospholipides) et protéique (lipovitelline, phosvitine) = source d'énergie et de matière première du DE.

Ribonucléoprotéines et protéines = réserves « maternelles » accumulées lors de la croissance de l'ovocyte dans l'ovaire.

Embryon puis têtard se développeront en utilisant ces réserves nutritionnelles contenues dans l'œuf jusqu'à ce que le têtard soit capable de se nourrir de façon autonome.

I- DE LA CELLULE FECONDABLE (OVOCYTE II) A LA CELLULE ZYGOTIQUE

I.1. Observations avant la fécondation

I.2. L'ovocyte II : une cellule polarisée à symétrie radiaire

I.3. La fécondation : acquisition de l'état diploïde et passage à une symétrie bilatérale

I.3.1. Le rétablissement de la diploïdie

I.3.2. La rotation d'équilibration et le blocage de la polyspermie

I.3.3. La rotation de symétrisation et l'acquisition d'un axe de polarité dorso-ventral

I.3.1 Le rétablissement de la diploïdie

Fécondation → fin de la méiose de l'ovocyte II avec l'émission du 2^{ème} globule polaire.

L'ovotide haploïde est alors un **stade fugace** : la fécondation rétablie dans l'heure qui suit la diploïdie de l'espèce par fusion des pronuclei mâle et femelle.

Dans les 2 heures qui suivent la fécondation, rotation d'**équibration** et la rotation de **symétrisation**.

I.3.2 La rotation d'équilibration et le blocage de la polyspermie

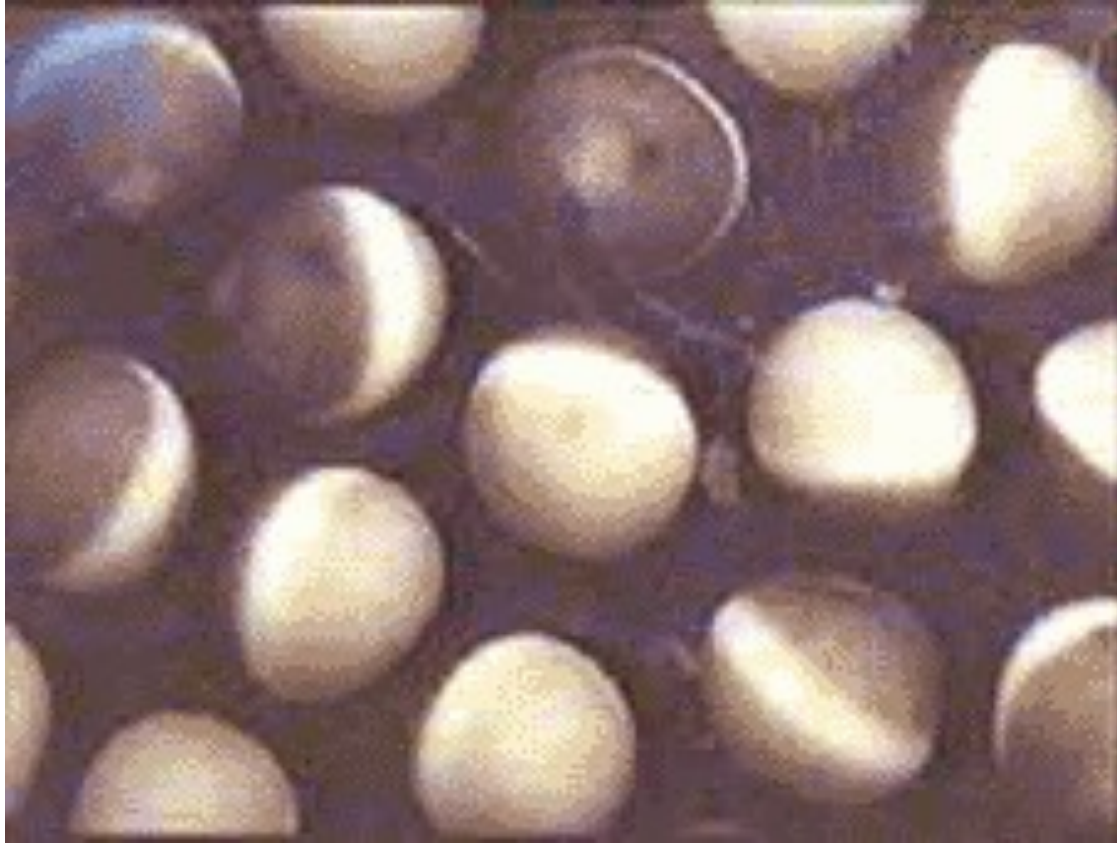
Idem Mammifères la fécondation → exocytose des granules corticaux entre la membrane plasmique et l'enveloppe vitelline → création d'un espace périvitellin.

Modification de la composition moléculaire de l'enveloppe vitelline et destruction des sites de reconnaissance des spermatozoïdes → membrane de fécondation (Req: ce n'est pas une membrane au sens cytologique) →

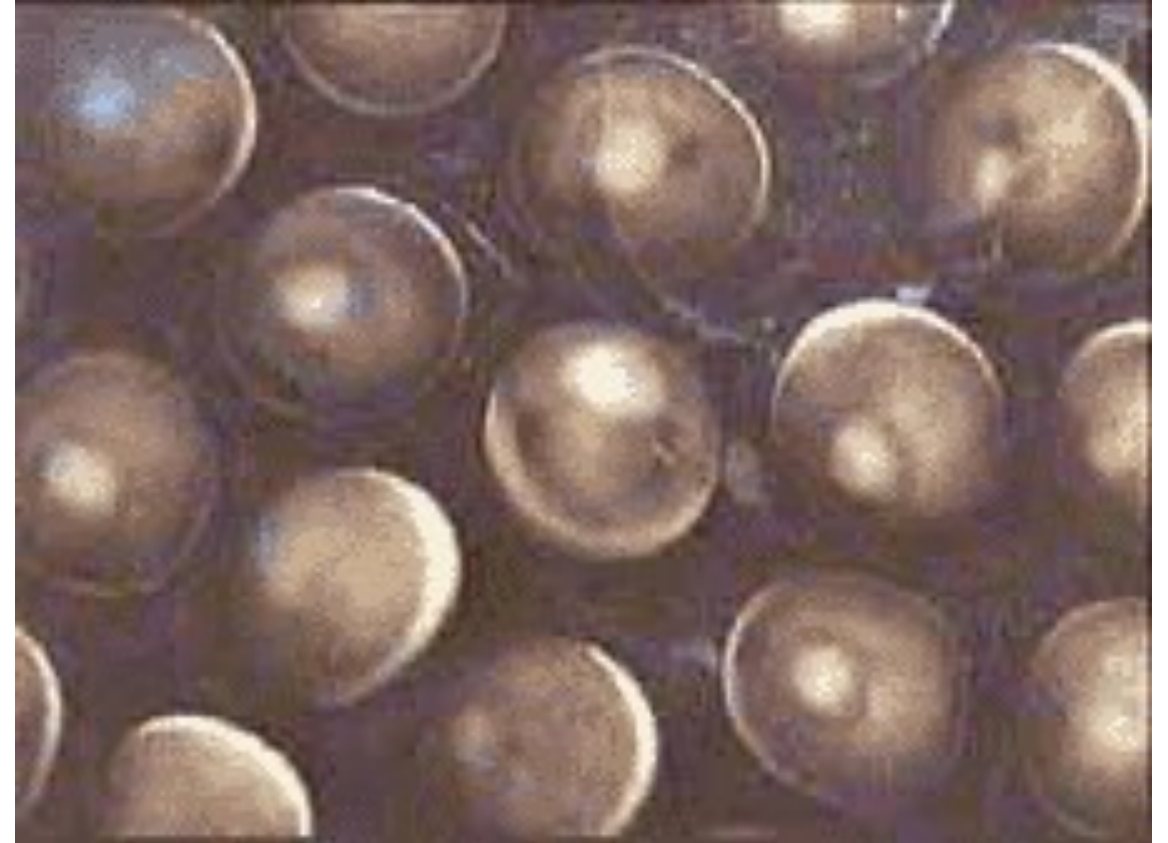
Blocage de la polyspermie et restauration du caractère diploïde de la cellule-œuf.

Zygote désolidarisé de ses enveloppes périphériques, s'oriente sous l'effet de la pesanteur. L'hémisphère végétatif, « le plus lourd », s'oriente passivement vers le bas = rotation d'équilibration : PA vers le haut et PV vers le bas.

DE 5a : Observation d'ovocytes d'amphibien avant et après fécondation



Toutes les tâches de maturations sont visibles indiquant que la rotation d'équilibration a eu lieu



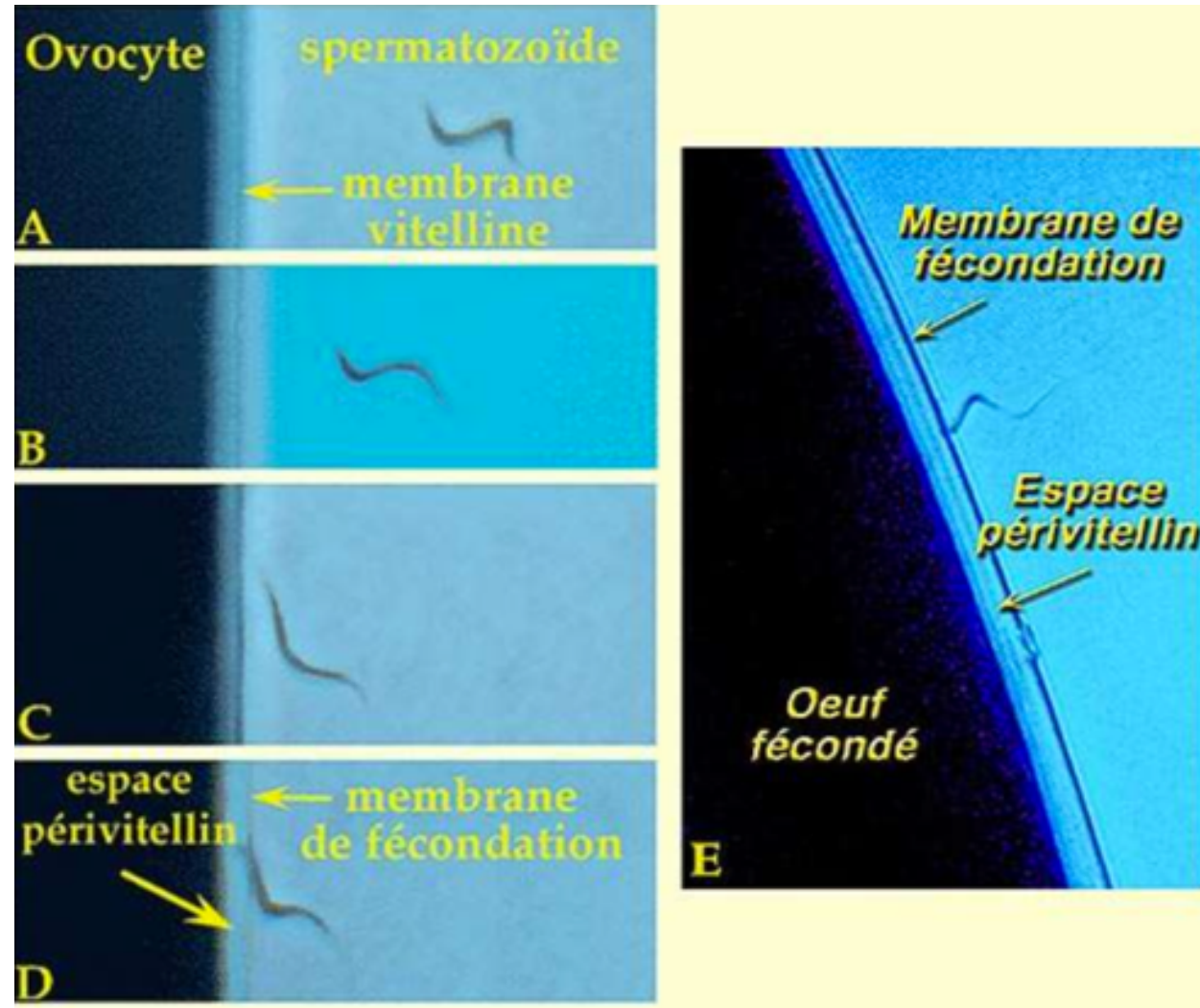
Vue de dessus d'ovocytes de xénope non fécondés (gauche) et fécondés (droite). D'après Univ. Paris VI.

DE 5b : La rotation d'équilibration

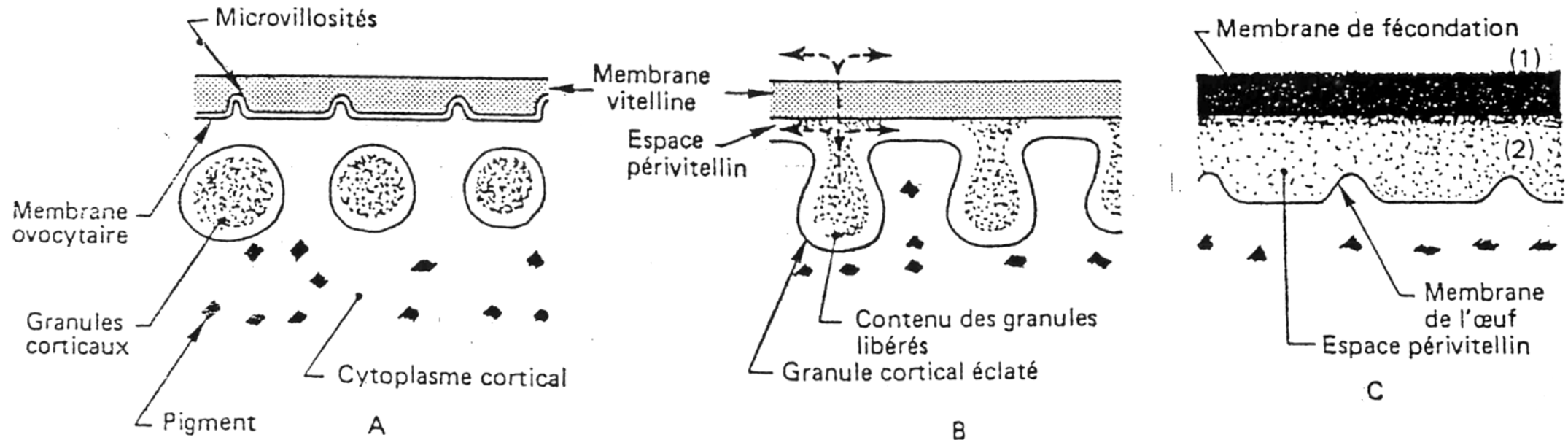
Après avoir traversé les gangues entourant l'ovocyte, le spermatozoïde perce la « membrane » vitelline puis vient au contact de la membrane plasmique (A à D).

La fusion du spermatozoïde et de l'ovocyte entraîne une série de réactions cytoplasmiques et membranaires dont la plus visible est le soulèvement de la « membrane » vitelline en une « membrane » de fécondation (D et E).

L'espace contenu entre la membrane plasmique et la membrane de fécondation porte le nom d'espace périvitellin (E).



DE 5c : Formation d'une membrane de fécondation et blocage de la polyspermie



A: Ovocyte non fécondé

B : fécondation et **exocytose des granules corticaux** : Le contenu des granules se répand dans l'espace périvitellin qui s'agrandit

C : La membrane vitelline est transformée en « membrane » de fécondation : structure modifiée, partiellement traversée par le contenu des granules corticaux. Le restant, gonflé d'eau se trouve dans l'espace périvitellin (2).

Attention: termes de membrane vitelline et membrane de fécondation abusifs. Utiliser le terme d'enveloppe plutôt.

I.3.3 La rotation de symétrisation et l'acquisition d'un axe de polarité dorso-ventral

Expériences-observations

Les traitements inhibant la polymérisation de la tubuline (nocodazole, colchicine, UV) inhibent la rotation du cortex qui a habituellement lieu après fusion des 2 gamètes. → embryon résultant ne possède pas de structures dorsales. La rotation de symétrisation dépend des microtubules.

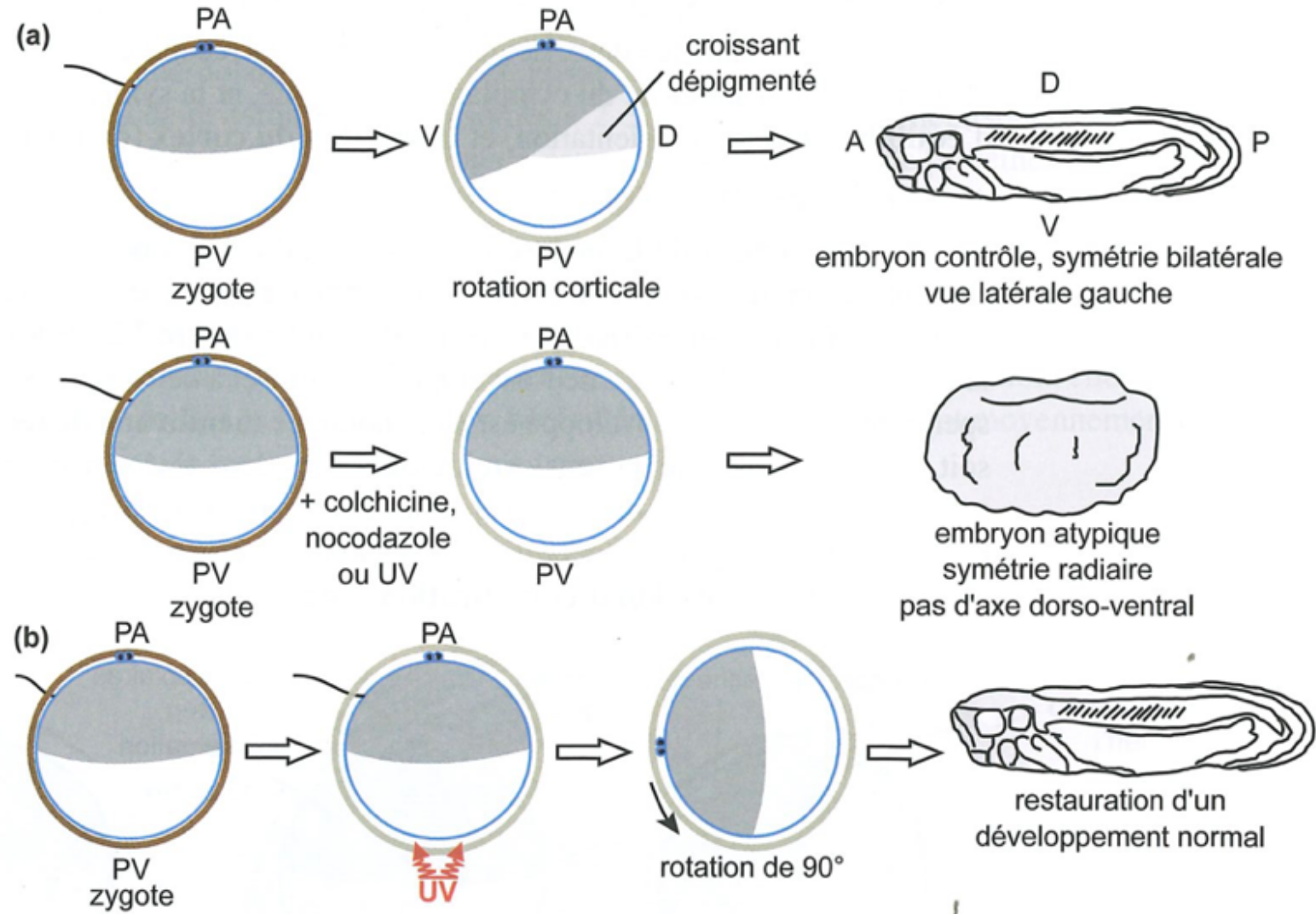
Rotation du cortex (rotation corticale ou **rotation de symétrisation**) se réalise avec le support de la dynamique microtubulaire et est nécessaire à l'acquisition du futur dos.

Cette rotation → déplacement des pigments corticaux du pôle animal et dénude une zone plus claire, appelée croissant gris.

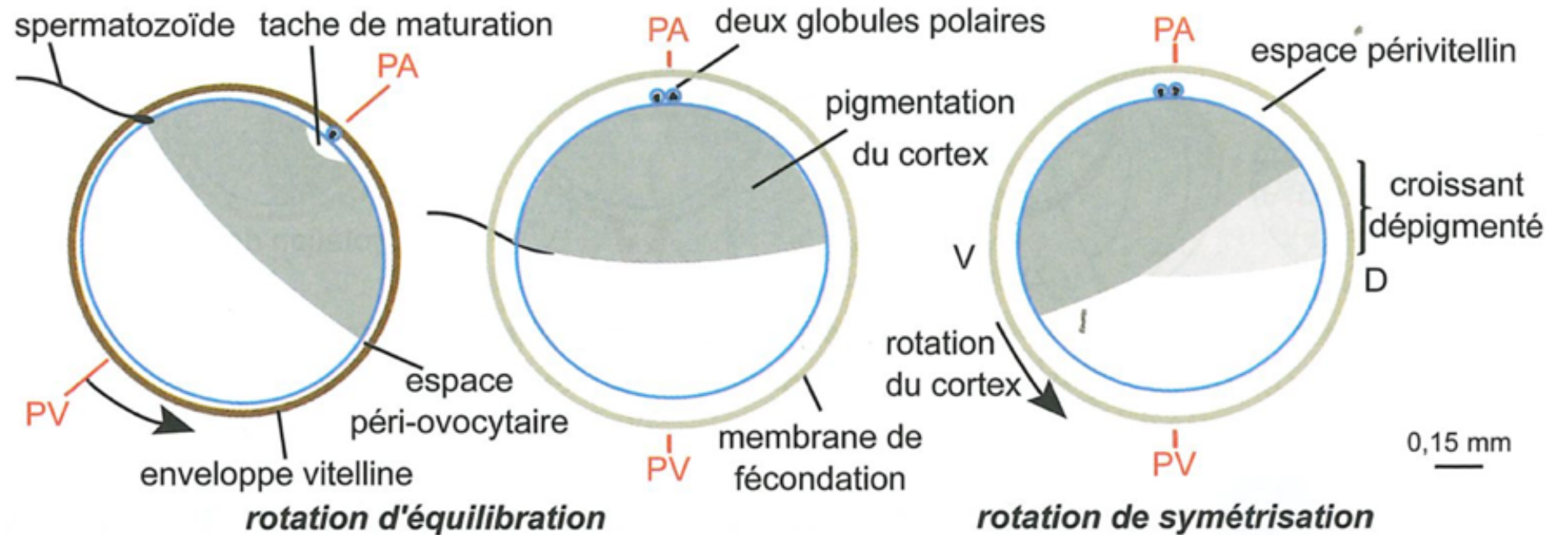
DE 6 : Analyses expérimentales du rôle de la rotation du cortex dans la rotation de symétrisation

Traitements inhibant la polymérisation de la tubuline (nocodazole, colchicine, UV)

Phénotype normal rétabli si après traitement aux UV, on fait subir une rotation artificielle du cytoplasme profond par rapport au cortex, en absence de microtubules.



DE 7 : Les rotations d'équilibration et de symétrisation



Fusion des 2 gamètes = pénétration simultanée du noyau du spz + 1 centriole spermatique dans l'ovocyte II.
 Centriole à l'origine de μT , dont interaction avec le cytosquelette de l'ovocyte $\rightarrow$ rotation de 30° / cytoplasme profond du cytoplasme cortical de l'ovocyte fécondé
 Rotation $\rightarrow$ asymétrise la cellule-œuf $\rightarrow$ 2^{ème} polarité, qui se superpose à la polarité PA-PV :
 pôle ventral = point d'entrée du spermatozoïde et
 pôle dorsal = position du croissant gris. Cet axe dorso-ventral est celui du futur animal.

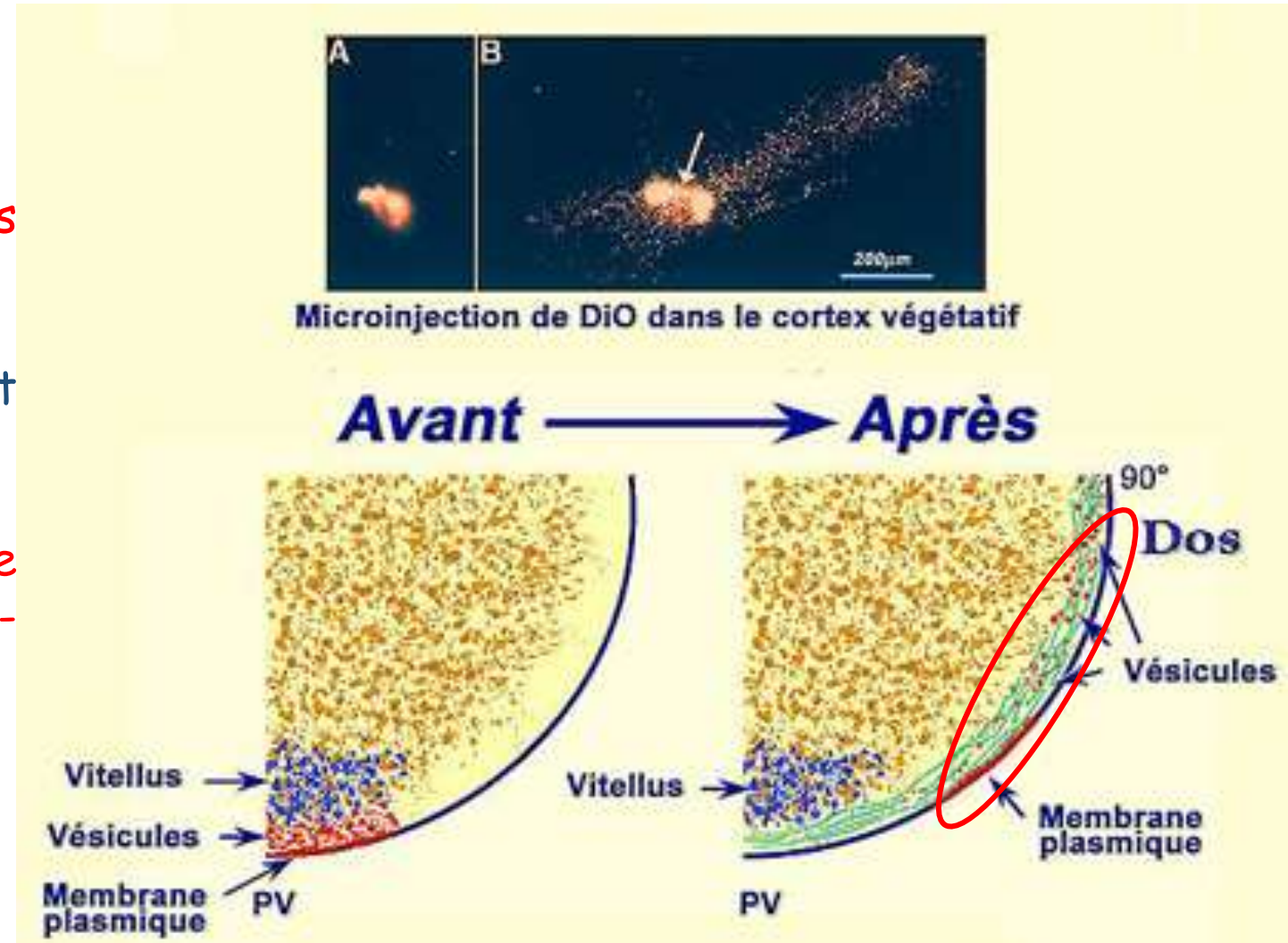
DE 8 : Mise en évidence de la relocalisation des vésicules corticales

Vésicules corticales situées au PV marquées avec un colorant fluorescent rouge (DiO).

Les grains de vitellus proches du PV sont marqués en bleu par un colorant vital.

1 heure après la fécondation, les vésicules se sont relocalisées dans la région dorso-végétative mais le vitellus n'a pas bougé.

Déplacement du cytoplasme superficiel comprenant la couche pigmentaire



BILAN : détermination de 2 axes de polarité

Axe PA-PV le long duquel s'organisera l'axe antéro-postérieur

Axe point d'entrée du spermatozoïde - croissant gris Axe dorso-ventral

- Point d'entrée du spz : côté ventral
- Position du croissant gris : côté dorsal

Acquisition du plan de symétrie bilatérale de l'embryon : caractéristique des Bilatériens.

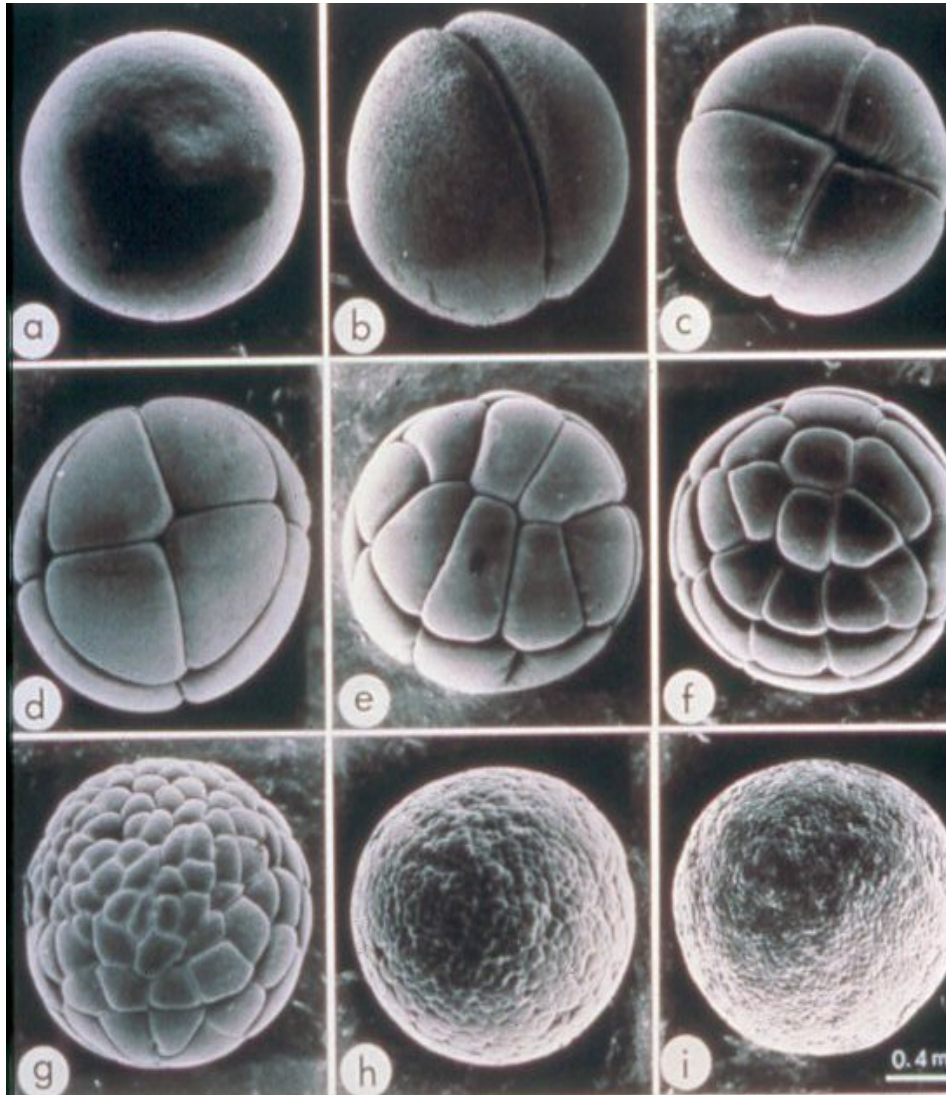
II- LA SEGMENTATION : ACQUISITION DE L'ETAT PLURICELLULAIRE

II.1. Une segmentation totale et inégale chez les Amphibiens

II.2. la blastula, une structure pluricellulaire organisée

II.3. La blastula : hétérogénéité des potentialités de développement

II.4. La transition mi-blastuléenne : début de l'expression du génome embryonnaire



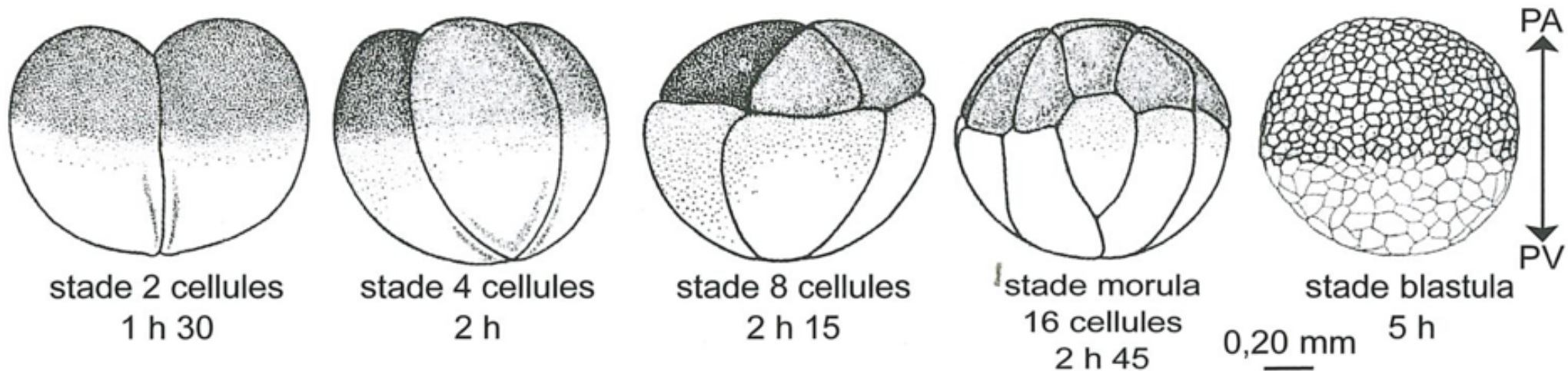
DE 9 : Observation : segmentation totale et inégale chez les Amphibiens

Une succession de mitoses dans un même volume. Le volume de chaque cellule diminue.
Macromères (PV) ; Micromères (PA)

Représentation schématique de cinq stades de la segmentation.

- 1^{er} plan de division vertical, méridien et passe par les pôles → 2 blastomères de taille identique.
- 2^{eme} plan de division également méridien et perpendiculaire au 1^{er} → 4 blastomères de taille identique.
- 3^{eme} plan de séparation horizontal, perpendiculaire aux deux précédents, légèrement au-dessus de l'équateur dans l'hémisphère animal ; le clivage devient inégal.

Tps de dvpt pour
une T° = 23 °C.
Vues latérales.
Membrane de
fécondation non
figurée.



(D'après Nieuwkoop and Faber (1994) « Normal Table of Xenopus /aevis (Daudin) ». Gar/and Publishing Inc, New York et <https://www.xenbase.org/anatomy/alldev.do>).

La **segmentation** (= clivage) après fécondation. Le **zygote**, cellule unique, entre en **mitose** → **embryon pluricellulaire (Eumétazoaire)** : morula → blastula (amphibiens) ou blastocyste (mammifères).

Cycles de mitose coordonnés dans l'espace et dans le temps : **divisions stéréotypées**.
Coordination liée à un complexe protéique (MPF) : **kinases** qui catalysent des **phosphorylations de cyclines**, dont les rythmes de synthèse-dégradation contrôlent les mitoses.

Segmentation totale.
Intégralité du volume de la cellule-œuf divisée entre les **blastomères** MAIS volume total de l'embryon n'augmentant pas → blastomères produits sont de plus en plus petits.

Surcharge en vitellus des blastomères de HV retarde leur division → moins nombreux et plus volumineux que les blastomères de HA → segmentation devient **inéga**le lors de la troisième mitose.

Plans de division alternativement horizontaux et méridiens. Au stade 128 cellules = **blastula**.
Apparition d'une **cavité** = **blastocœle**.

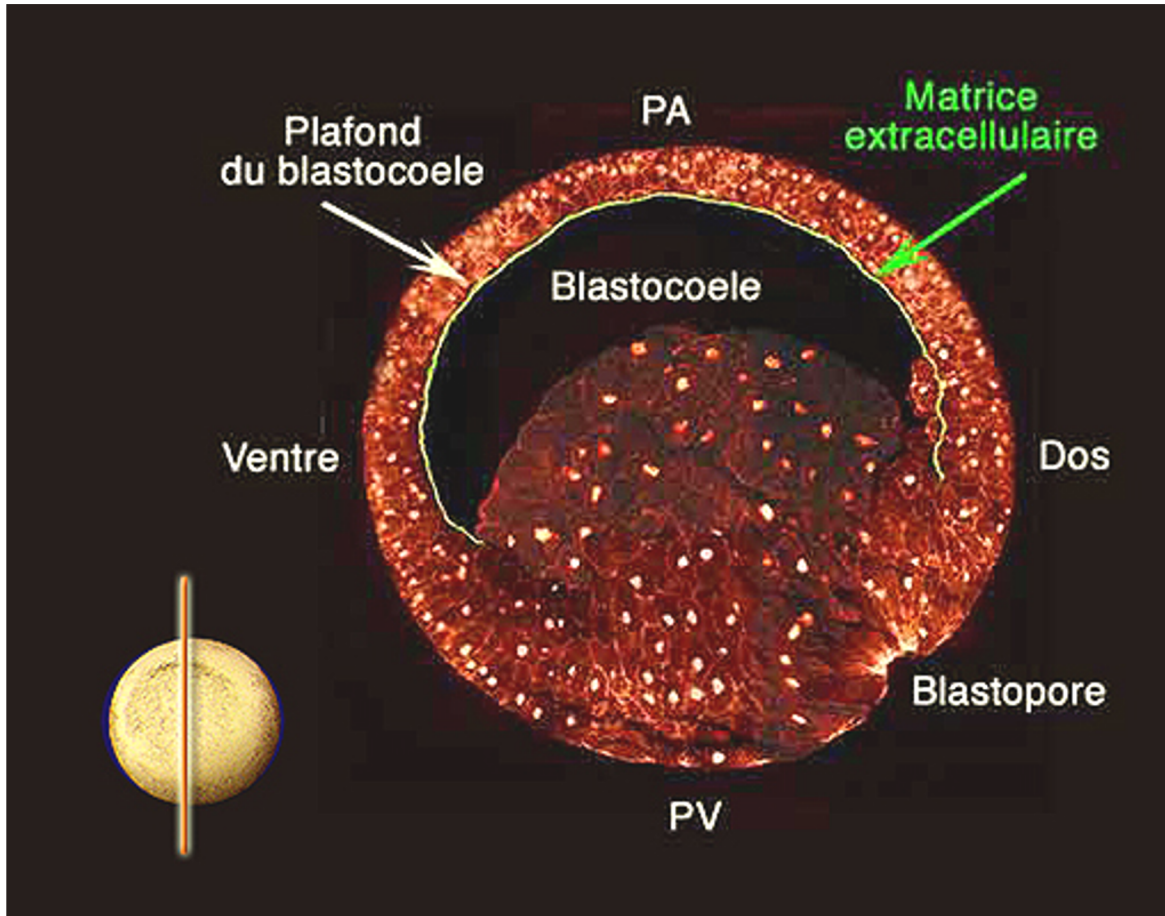
II- LA SEGMENTATION : ACQUISITION DE L'ETAT PLURICELLULAIRE

II.1. Une segmentation totale et inégale chez les Amphibiens

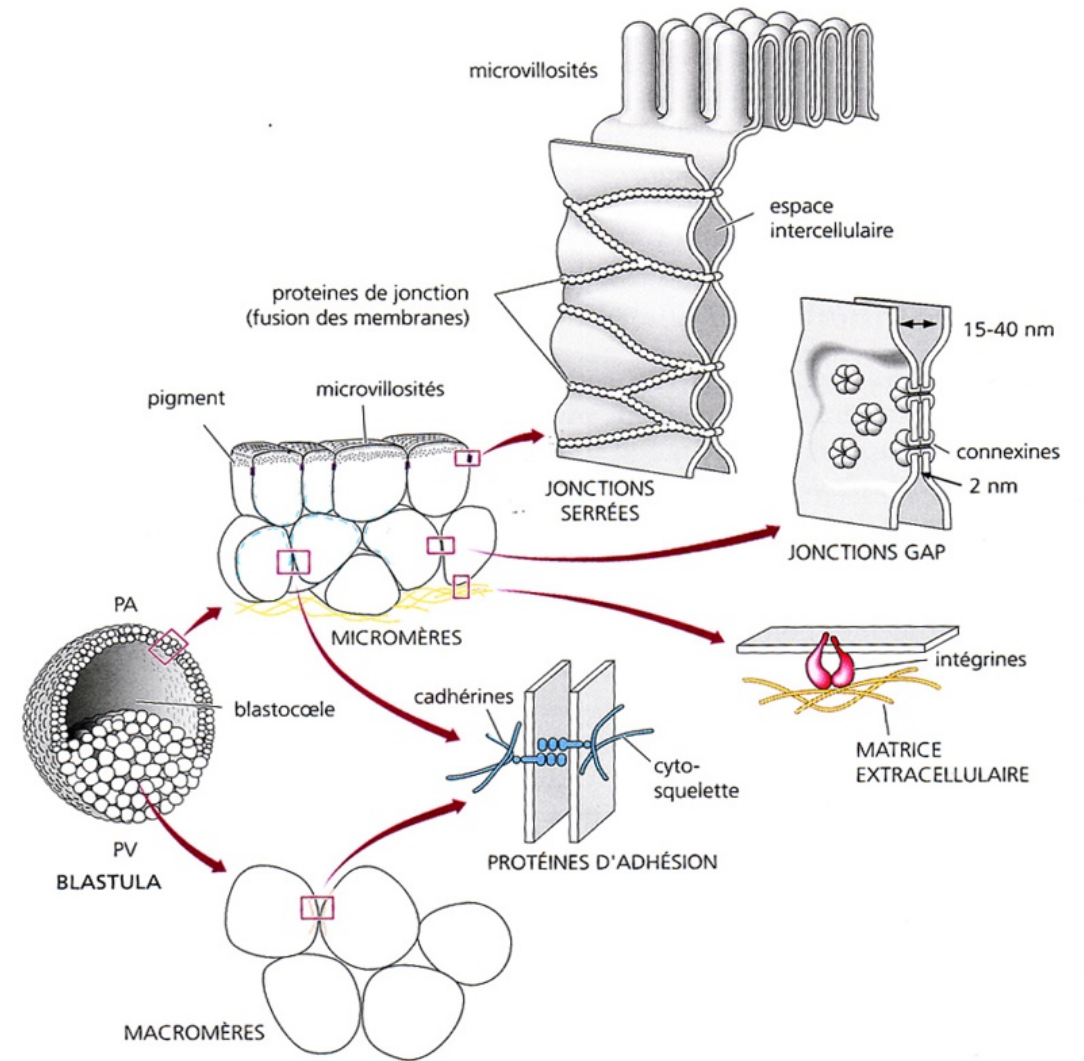
II.2. la blastula, une structure pluricellulaire organisée

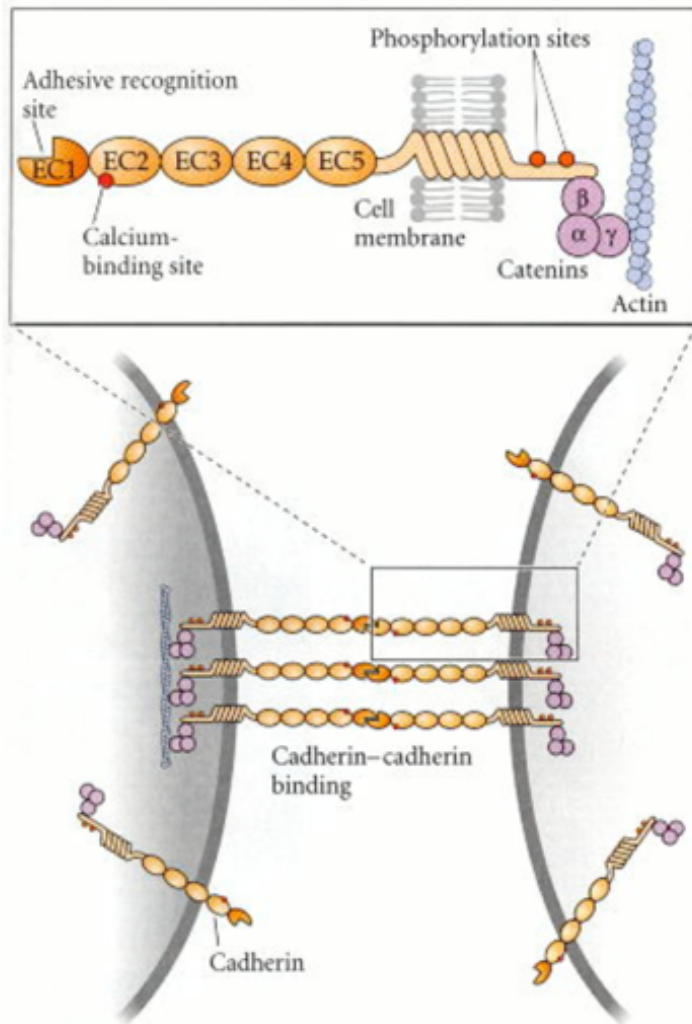
II.3. La blastula : hétérogénéité des potentialités de développement

II.4. La transition mi-blastuléenne : début de l'expression du génome embryonnaire

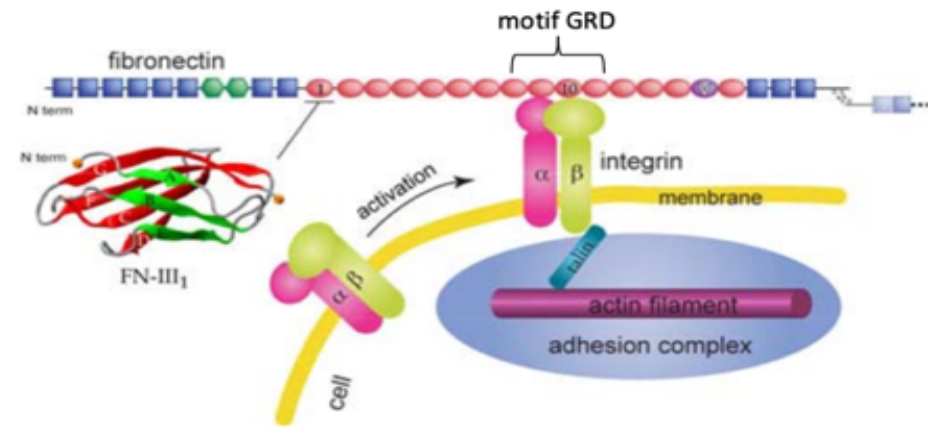


DE 10 : Représentation schématique d'une blastula

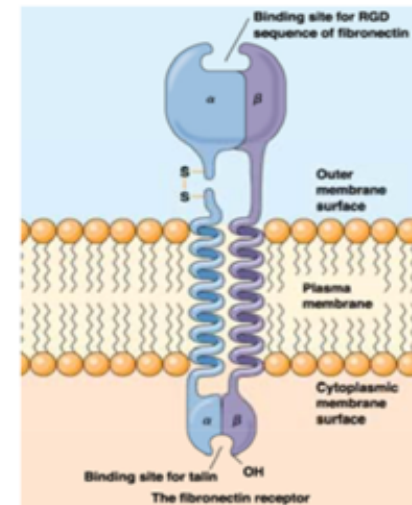




Les cadhérines



Association
fibronectine-
intégrine



La spécificité de liaison dépend du domaine extracellulaire des sous-unités α .

Les domaines de liaison extracellulaires identifient le motif GRD (Arg-Gly-Asp) et d'autres parties de glycoprotéines.

Les parties intracellulaires des intégrines possèdent des domaines de liaison pour des molécules du cytosquelette.

Fin de segmentation : 13 000 à 15 000 blastomères, agencés en une structure très organisée autour du blastocœle. Blastula constituée de 2 types de cellules, micromères et macromères, elle est diblastique.

Les cellules du toit du blastocœle :

- ✓ établissent des jonctions gap laissant passer des molécules d'une MM $w < 1,5$ kDa.
- ✓ expriment les molécules d'adhérence intercellulaire = cadhérines → cohésion.

Micromères en contact avec le blastocœle synthétisent et sécrètent une 1^{ère} MEC glycoprotéique à leur pôle basal qui forment le toit de la cavité constituée essentiellement de fibronectine et la laminine.

Le plancher du blastocœle en est dépourvu.

Macromères : ni jonctions serrées ni jonctions gap. Leur adhérence, plus faible que celle des micromères, est réalisée par les interactions cadhérine-cadhérine.

II- LA SEGMENTATION : ACQUISITION DE L'ETAT PLURICELLULAIRE

II.1. Une segmentation totale et inégale chez les Amphibiens

II.2. la blastula, une structure pluricellulaire organisée

II.3. La blastula : hétérogénéité des potentialités de développement

II.4. La transition mi-blastuléenne : début de l'expression du génome embryonnaire

Exp : Au stade 2 cellules, séparation des cellules chacune contenant la moitié du croissant dépigmenté et mise en culture séparément → chaque cellule poursuit son développement et produit un embryon.

Si isolement d'un blastomère qui n'hérite pas du croissant gris → division mais formation d'une structure indifférenciée à symétrie radiaire, sans structures dorsales.

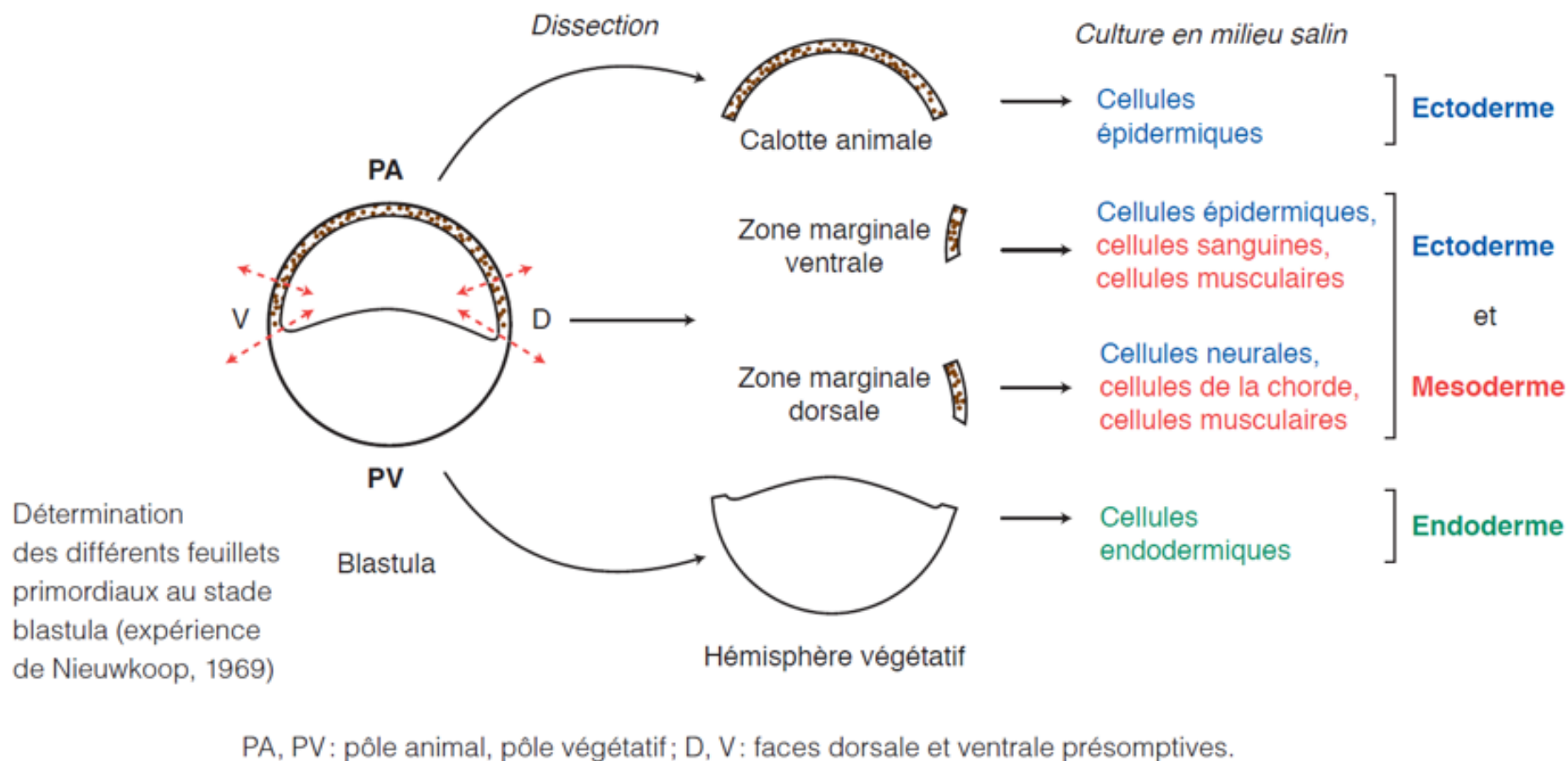
Ccl: Dès le stade 2 cellules, les blastomères n'ont donc pas les mêmes potentialités de développement. Le cytoplasme de celui qui hérite du croissant gris contient des déterminants cytoplasmiques, qui contrôlent le programme de développement : ARNm, messagers protéiques intercellulaires et facteurs de transcription.

DE 11 : Représentation schématique de la structure d'une blastula (a) et de ses potentialités de développement (b)

Micromères en bleu,
Macromères en vert
Embryon disséqué
(pointillés rouges).

Incubation de chaque
région de la blastula in
vitro dans une solution
saline pendant quelques
jours.

Identification des types
cellulaires et tissulaires
obtenus par analyses
histologiques. (Nieuwkoop,
1969).



Micromères de la calotte animale = **progéniteurs** de l'ectoderme.

Micromères de la zone marginale produisent de l'ectoderme et des cellules du mésoderme.

Macromères de l'hémisphère végétatif produisent cellules de l'endoderme.

Selon leur position selon l'axe PA-PV, les cellules de la blastula évoluent différemment. Ils ont acquis une **information de position** qui détermine leur devenir : c'est une **induction embryonnaire** (cf cours sur la formation du membre).

Blastula, constituée de deux types structuraux de cellules, est à l'origine des trois feuillets embryonnaires caractéristiques des embryons de vertébrés : elle contient les cellules pluripotentes à l'origine de l'ectoderme, du mésoderme et de l'endoderme.

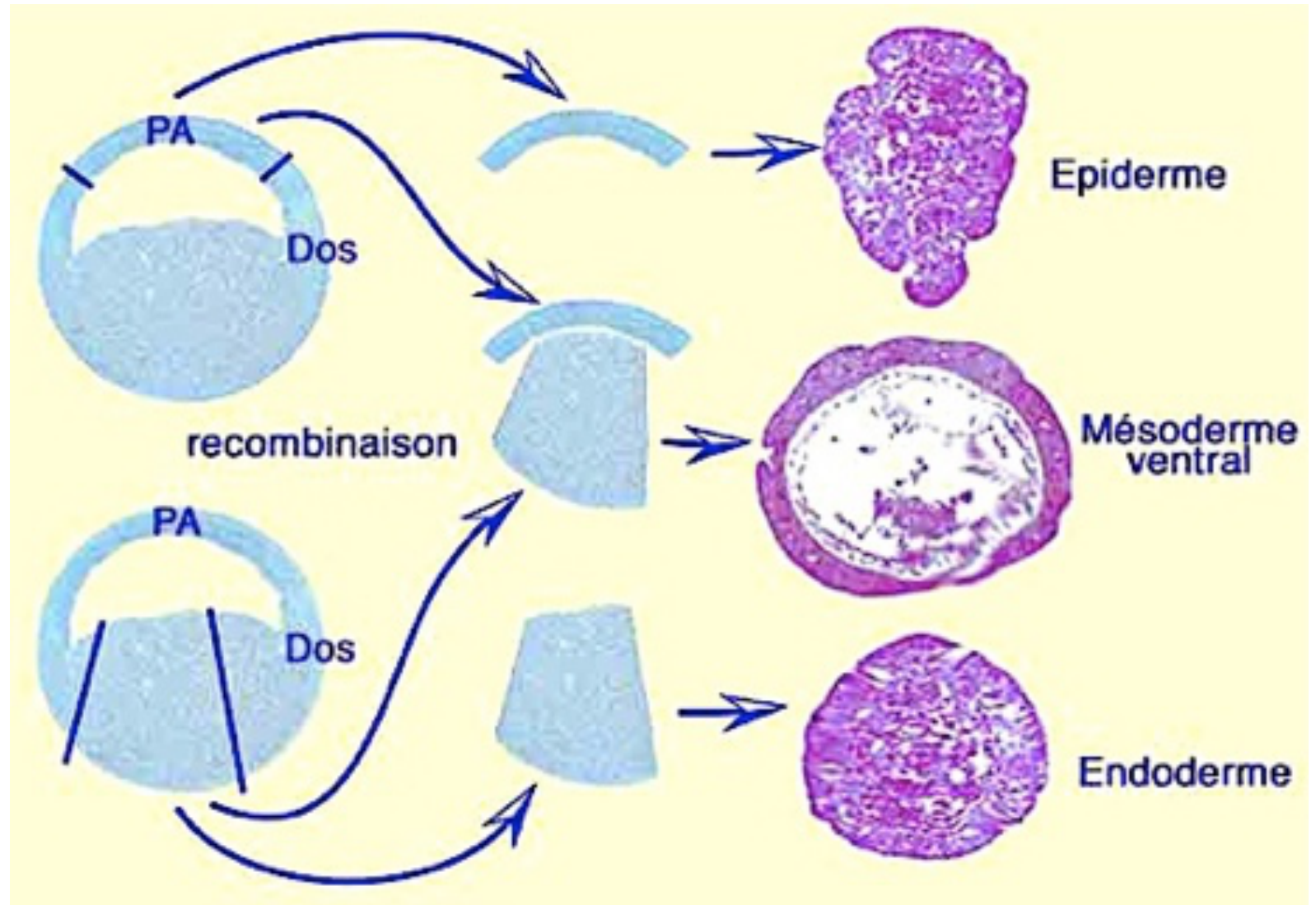
Hypothèse de Nieuwkoop : les cellules endodermiques, au contact des micromères de la zone marginale, sont responsables de ce changement de destinée →

Expériences de **recombinaison** = cultures conjointes de tissus qui n'ont normalement pas de contact entre eux dans l'embryon. Au stade blastula, il cultive conjointement des cellules de la calotte animale (normalement ectodermiques) et des blastomères végétatifs. L'analyse montre que les cellules qui en résultent sont des cellules mésodermiques.

Les blastomères végétatifs sont donc capables d'induire la différenciation de cellules ectodermiques en mésoderme.

DE 12 : Induction et contrôle de la compétence

DE 12a Expérience de recombinaison de Nieuwkoop



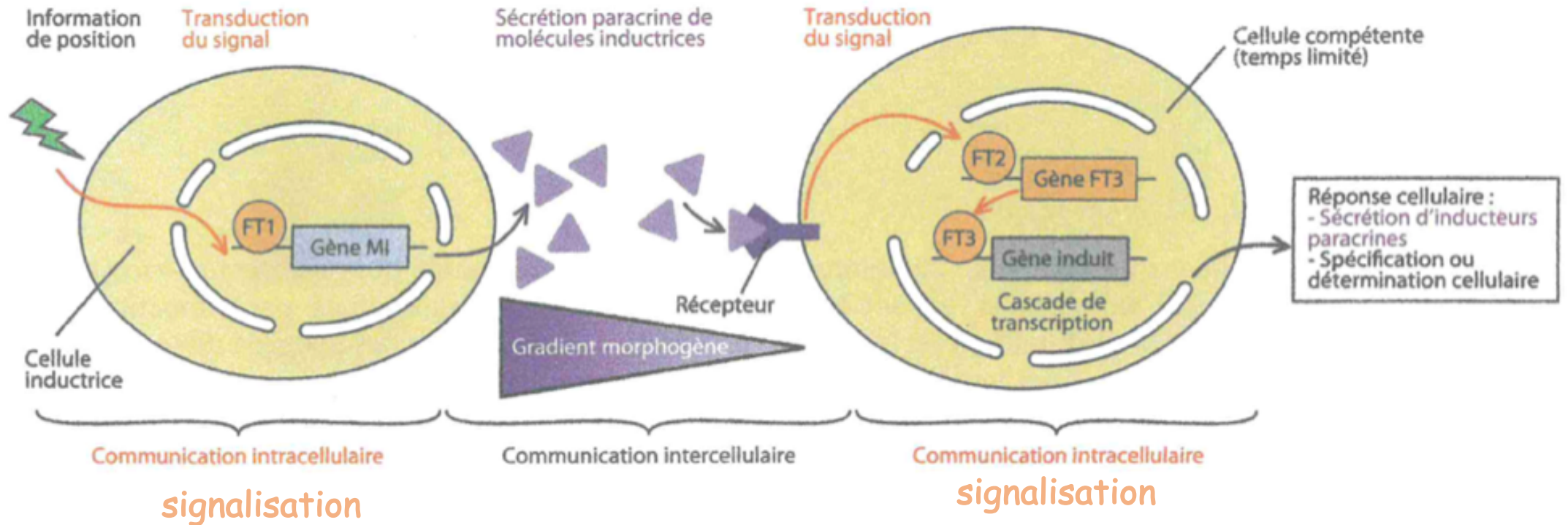
On déduit de ces expériences que :

- Seules, les cellules de la calotte animale se différencient en ectoderme (épiderme).
- Les blastomères ventro-végétatifs provoquent la différenciation des cellules de la calotte animale en mésoderme ventral.
- Les cellules du centre de Nieuwkoop (blastomères dorso-végétatifs) sont capables d'induire le mésoderme dans les cellules de la calotte animale.

Cellules de la calotte animale **compétentes** pour ce facteur inducteur → changement de leur destinée pour devenir **mésodermiques**, par modification de leur expression génétique.

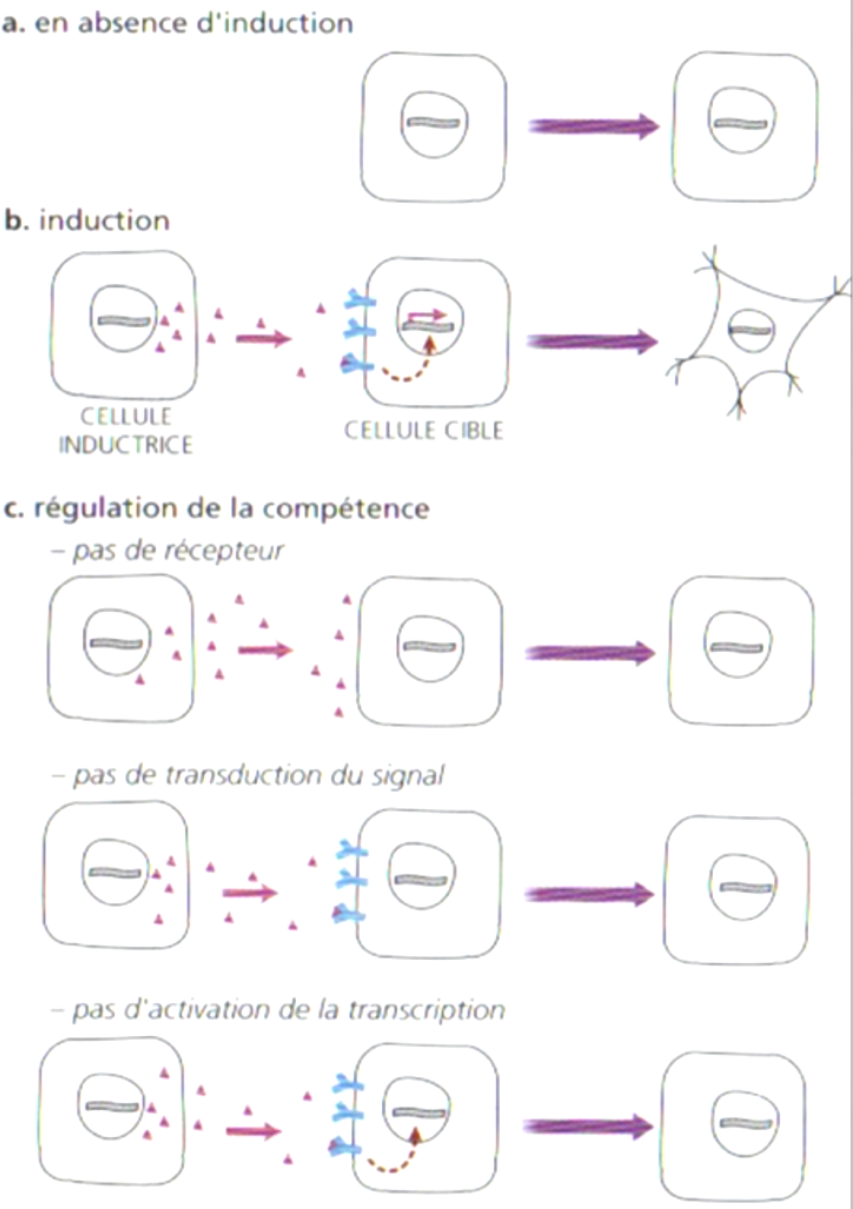
Cette expérience fonctionne même quand les cellules sont séparées par une membrane perméable → les blastomères végétatifs produisent une **molécule de signalisation mésodermisante** qui diffuse depuis les macromères vers la zone marginale.

DE 12b :
schéma
d'une
induction



Induction embryonnaire = modification de la destinée d'une cellule en réponse à un facteur extérieur diffusible produit par une autre cellule. La cellule induite est **compétente** pour ce facteur inducteur

DE 12b: Contrôles possible de la compétence



Type de cellule	Caractéristiques	Exemples
Totipotentes	Cellules capables de donner un organisme entier	Cellules de morula (stade 4-8 cellules)
Pluripotentes	Cellules capables de se différencier en tout type cellulaire	Cellules souches embryonnaires
Multipotentes	Cellules à l'origine de plusieurs types cellulaires	Cellules de la moelle osseuse (hématies, leucocytes)
Unipotentes	Cellules ne produisant qu'un seul type cellulaire	Cellules de la peau, spermatogonies
Différenciées	Cellules spécialisées	Myocyte, CPP

Point de vocabulaire

On peut dire endoderme ou endoblaste, ectoderme ou ectoblaste, mésoderme ou mésoblaste. Y a-t-il une différence entre ces termes ? Plusieurs écoles !!

- a) Le suffixe -blaste = territoire présomptif (territoire non différencié qui donnera naissance au feuillet) et le suffixe -derme = feuillet en place.
- b) Aucune différence entre -derme et -blaste. C'est celle que nous avons retenue.

II- LA SEGMENTATION : ACQUISITION DE L'ETAT PLURICELLULAIRE

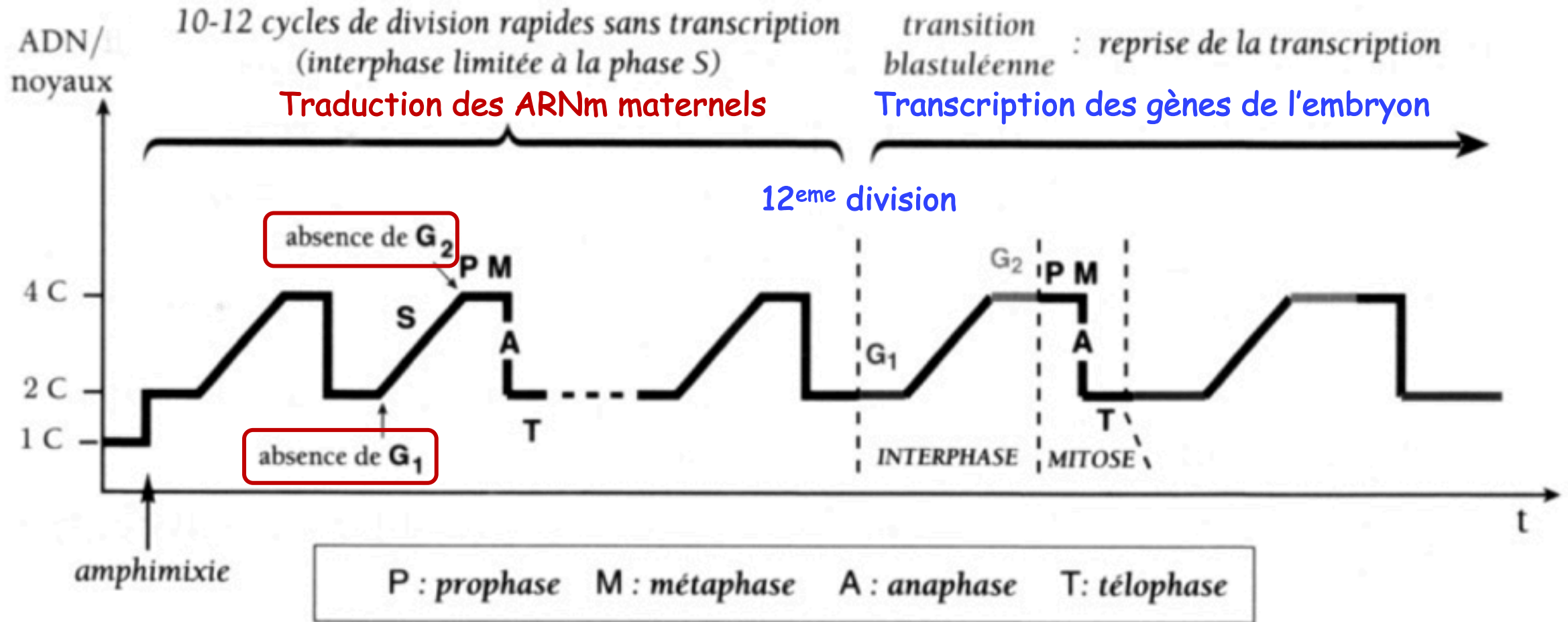
II.1. Une segmentation totale et inégale chez les Amphibiens

II.2. la blastula, une structure pluricellulaire organisée

II.3. La blastula : hétérogénéité des potentialités de développement

II.4. La transition mi-blastuléenne : début de l'expression du génome embryonnaire

DE 13 : Variations du taux d'ADN nucléaire au cours des premiers cycles cellulaires de la segmentation



III-LA GASTRULATION : MOUVEMENTS MORPHOGENETIQUES ET POSITIONNEMENT DES TROIS FEUILLETS EMBRYONNAIRES A L'ORIGINE DE L'ETAT TRIBLASTIQUE

III.1. Le suivi du devenir des territoires : la carte des territoires présomptifs

III.2. Les mécanismes cellulaires et moléculaires des mouvements gastruléens

III.2.1. L'épibolie : mitoses, aplatissement et intercalation des cellules

III.2.2. Involution-invagination (embolie) : intervention du cytosquelette, motilité cellulaire

III.2.3. La convergence-extension : intercalation des cellules

III.2.4. Le mouvement de rotation de l'endoderme

III.3. Modifications dans l'expression des molécules d'adhérence et séparation des 3 feuillets embryonnaires

"It is not birth, marriage, or death, but gastrulation, which is truly the most important time in your life."

Lewis Wolpert (1986)

DE 14 : Les méthodes pour analyser les mouvements de la gastrulation

Expériences : Les plus anciennes expériences de marquage et de suivi des cellules pendant le développement embryonnaire datent de 1925 : travaux de Vogt. Ces expériences ont été réalisées sur des blastulas en marquant les blastomères en surface par diffusion de colorants vitaux (rouge neutre ou bleu de Nil) depuis des blocs de gélose apposés sur l'embryon en différents emplacements avant l'initiation de la gastrulation ou pendant la gastrulation. Le colorant diffuse depuis l'agar et marque les cellules à son contact en quelques minutes. Le fragment d'agar est ensuite éliminé avant l'observation de la blastula à la loupe binoculaire.

DE 14a : La méthode dite des marques colorées : Dr Walter Vogt, 1925 (a) vues externes, (b) vues en coupe sagittale.

Marque 1: PA dans le plan de symétrie bilatérale.

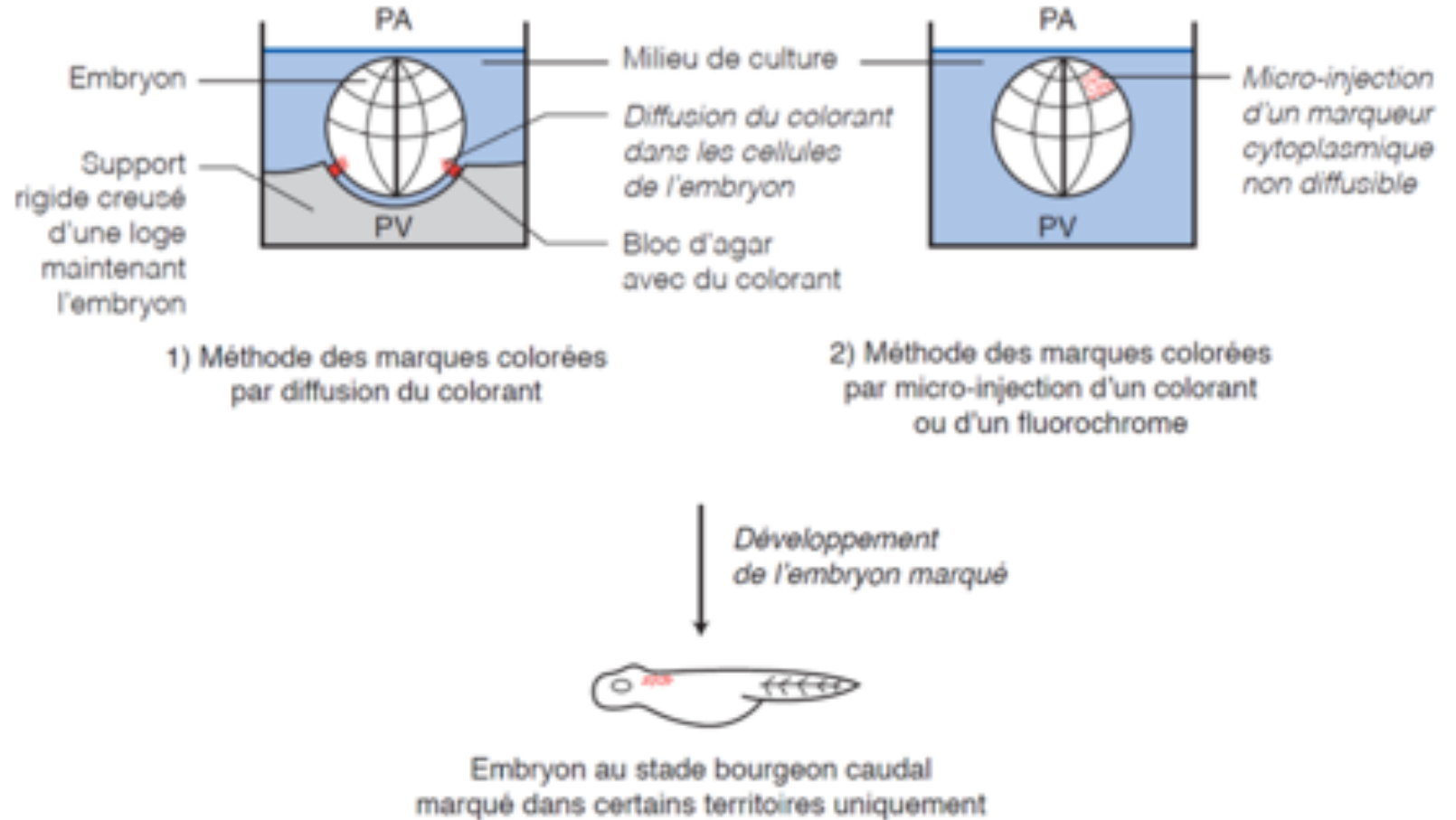
Marque 2 dans HA, dans le plan de symétrie bilatérale.

Marque 3 de part et d'autre du plan de symétrie dans la zone marginale latérale.

Marque 4: zone marginale dorsale dans le plan de symétrie bilatérale.

Réalisation d'une carte des territoires présomptifs

Ⓢ Les colorants vitaux sont constitués par des molécules qui ne sont pas toxiques pour les cellules (ex. : Bleu de Nil, rouge neutre). Ils sont transmis aux cellules filles au cours des divisions mitotiques.



DE 14b : Représentations schématiques de l'évolution de six marques colorées déposées à la surface de la jeune gastrula et observées à trois stades de la gastrulation.

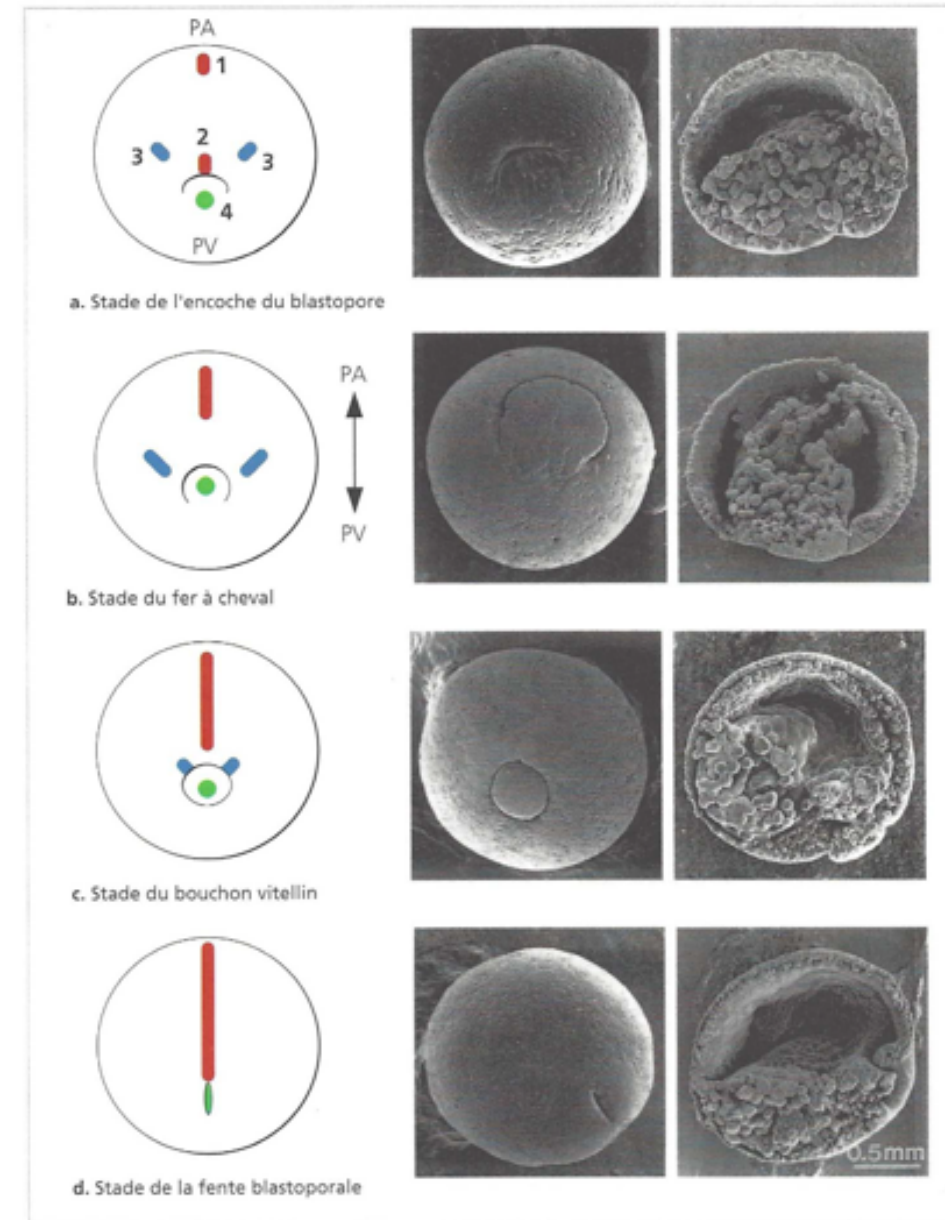
Vues externes

Marques rouges : épibolie et invagination de la lèvre dorsale du blastopore

Marque verte: internalisation des territoires endodermiques du PV

Marques bleues: convergence des territoires mésodermiques de la zone marginale latérale

L'analyse montre également un mouvement global de basculement de la gastrula → PA se déplace et devient la future région antérieure et PV, la future région postérieure de l'embryon.

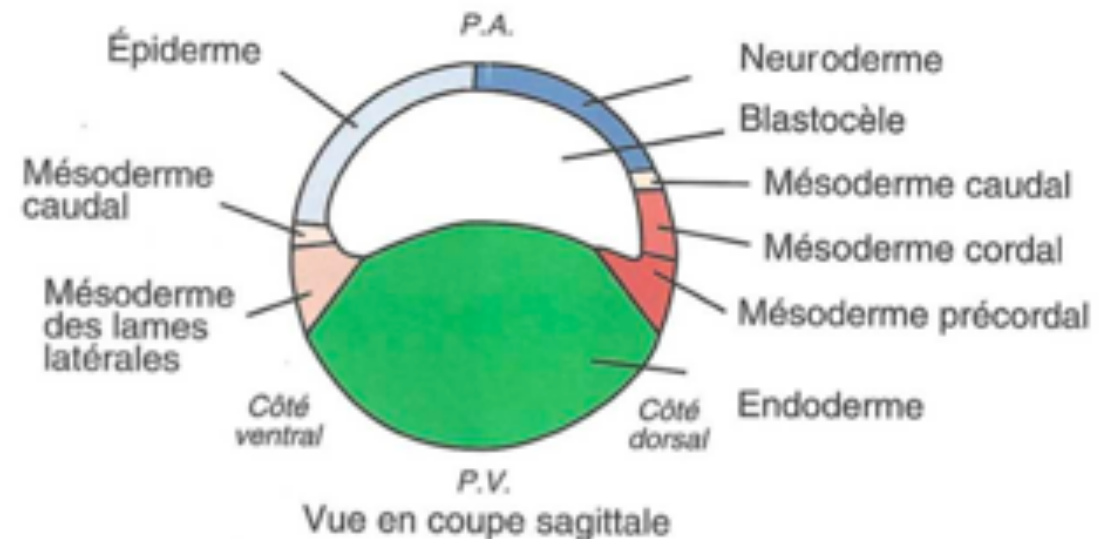
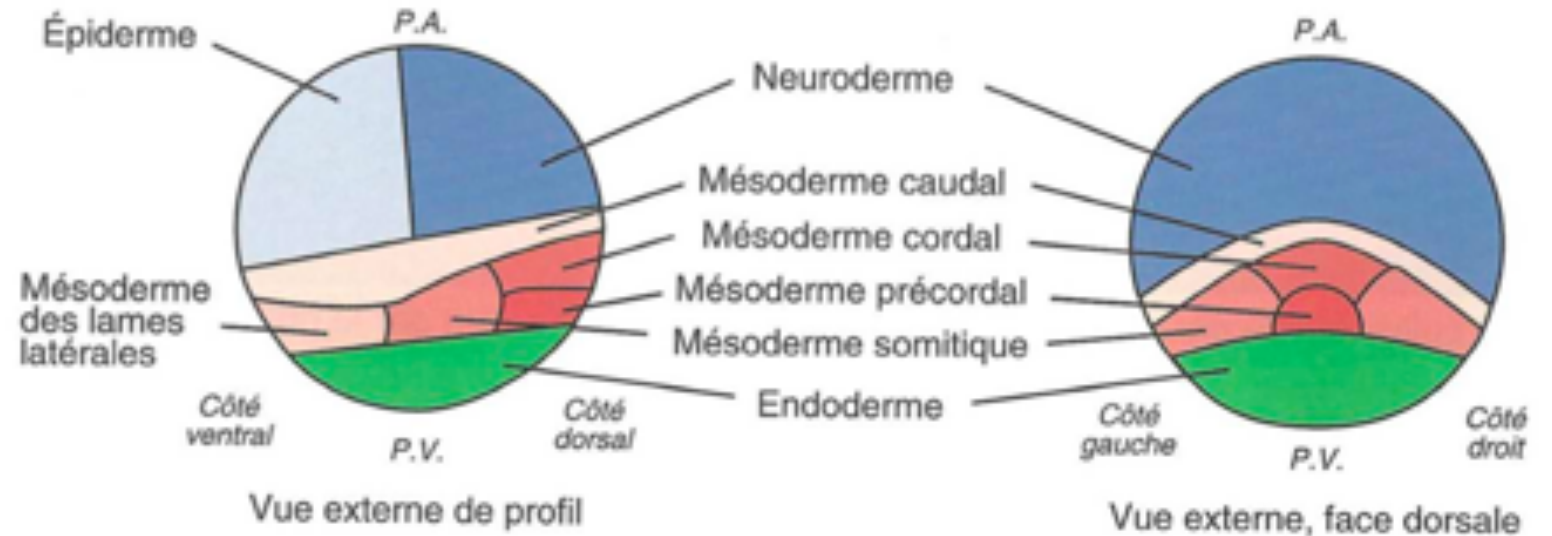


DE 14c : Carte des territoires présomptifs (urodèles)

Méthodes récentes plus fines : marquage d'une seule cellule renseigne sur ses changements de forme, participation à tel ou tel feuillet et devenir de sa descendance.

Analyse des résultats →

carte des potentialités (=territoires présomptifs) = destinées des cellules selon leur position par rapport à l'axe PA-PV et à l'axe D-V.



Territoires situés au-dessus de la limite d'involution sont les progéniteurs de l'épiderme et du neurectoderme: installation en surface au cours de la gastrulation (épibolie).

Le neurectoderme sera internalisé lors de l'organogenèse pour former le tube neural. Les territoires situés sous la limite d'involution internalisés au cours de la gastrulation.

Dans le mésoderme de la zone marginale, selon la position des cellules par rapport à l'axe dorso-ventral, on distingue les territoires qui donneront le mésoderme dorsal, paraxial, intermédiaire, latéral et ventral.

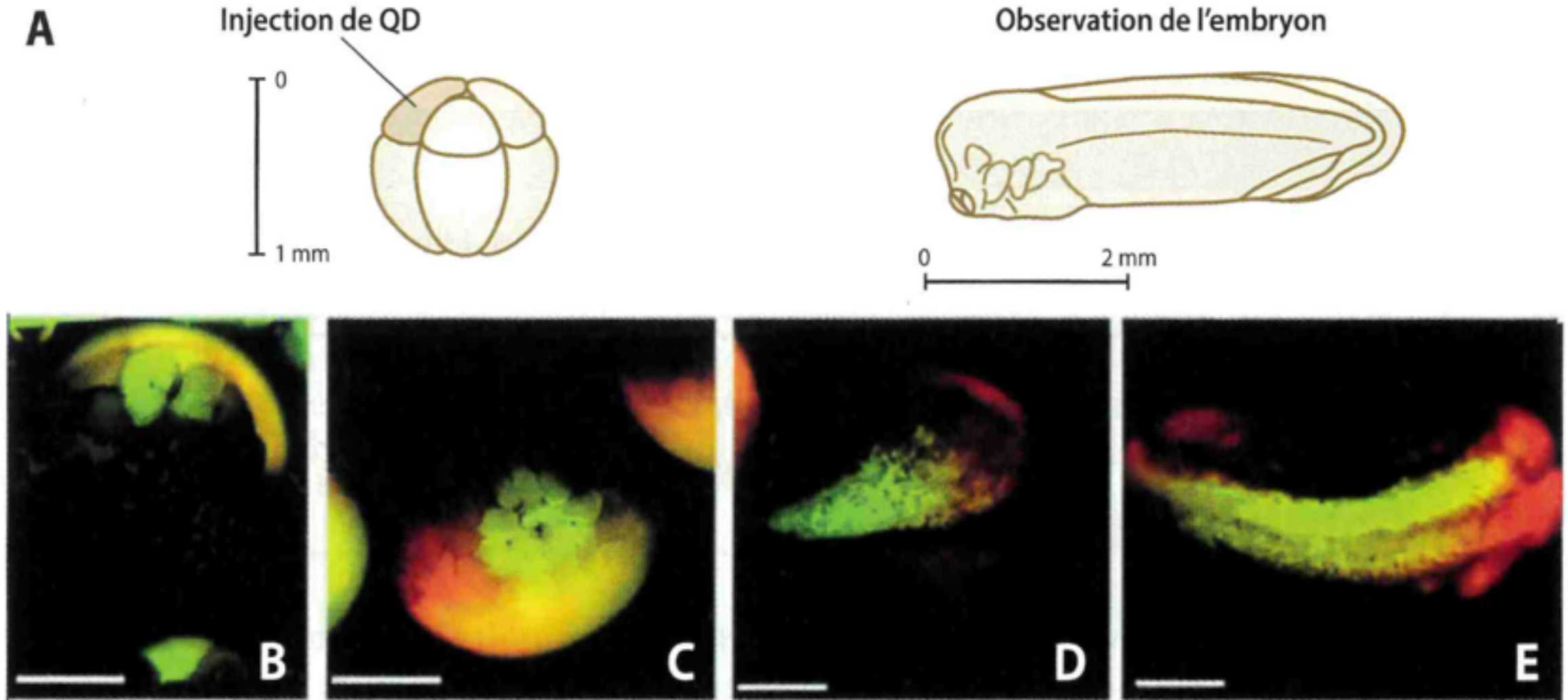
Dans chaque territoire, les différents tissus et organes se différencieront lors de l'organogenèse.

Evolution des techniques : injection de marqueurs fluorescents dans les blastomères et de suivi du devenir des cellules par microscopie à fluorescence → suivi de la descendance cellulaire cellule par cellule, on parle de **carte de lignage cellulaire**

14d : Les cartes de lignage cellulaire

Un exemple d'expérimentation avec des quantum dots (QD : nanoparticules fluorescentes). La barre d'échelle= 0,5 mm

A : protocole d'injection de quantum dots dans un unique blastomère. B: Observation en microscopie à fluorescence d'une morula dont un blastomère contient les quantum dots injectés. C : Observation en microscopie à fluorescence du même embryon une heure après. D et E: Observation en microscopie à fluorescence du même embryon au stade neurula



La gastrulation débute vers le 15^e cycle de division de l'embryon.

Mouvements observés à la loupe binoculaire et par vidéocinématographie.

Des cellules s'étendent à la surface de l'embryon et que d'autres disparaissent à l'intérieur de l'embryon = **mouvements morphogénétiques** de la gastrulation

✓ avec positionnement des 3 feuillets embryonnaires (ectoderme, mésoderme et endoderme) et

✓ mise en place du plan d'organisation de l'embryon.

Pendant ces mouvements, les divisions cellulaires se poursuivent, mais à un **rythme plus lent** qu'au cours de la segmentation ; le volume total de l'embryon varie peu. Le **métabolisme oxydatif s'intensifie**, les **gènes zygotiques s'expriment**.

III-LA GASTRULATION : MOUVEMENTS MORPHOGENETIQUES ET POSITIONNEMENT DES TROIS FEUILLETS EMBRYONNAIRES A L'ORIGINE DE L'ETAT TRIBLASTIQUE

III.1. Le suivi du devenir des territoires : la carte des territoires présomptifs

III.2. Les mécanismes cellulaires et moléculaires des mouvements gastruléens

III.2.1. L'épibolie : mitoses, aplatissement et intercalation des cellules

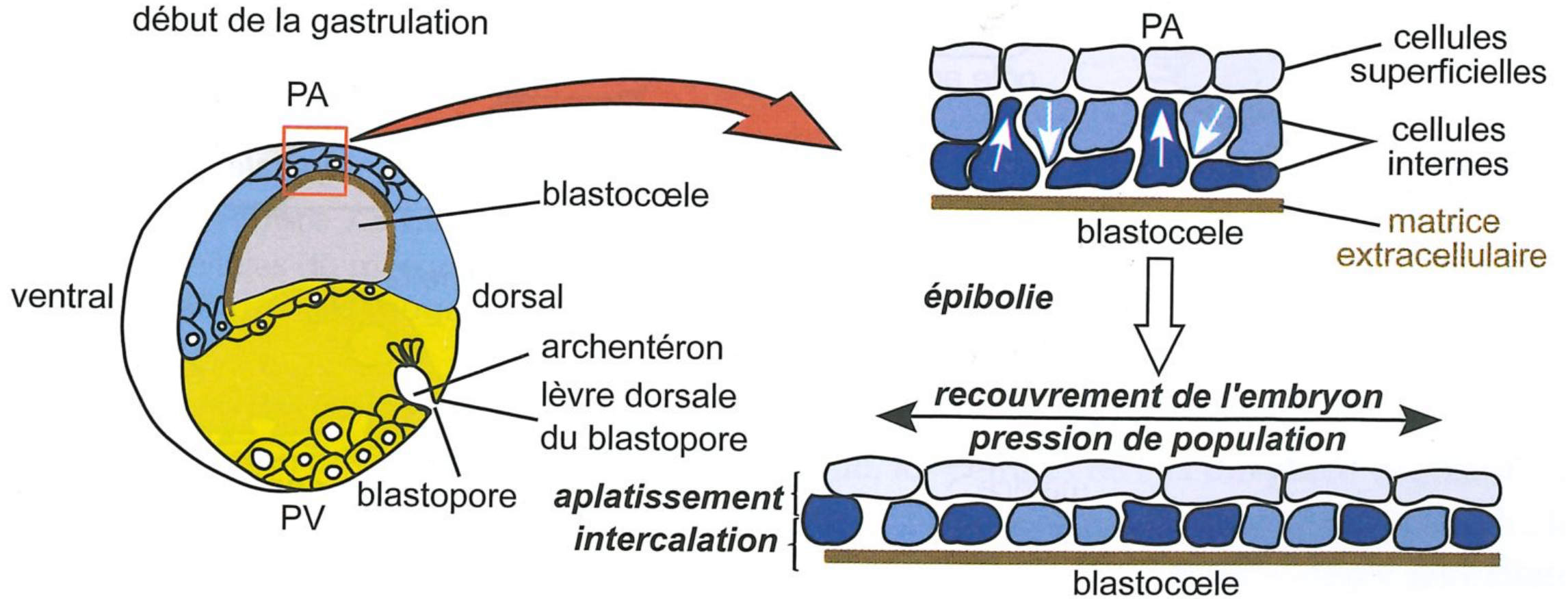
III.2.2. Involution-invagination (embolie) : intervention du cytosquelette, motilité cellulaire

III.2.3. La convergence-extension : intercalation des cellules

III.2.4. Le mouvement de rotation de l'endoderme

III.3. Modifications dans l'expression des molécules d'adhérence et séparation des 3 feuillets embryonnaires

Doc 15 : L'épibolie : mitoses, aplatissement et intercalation des cellules



En surface, les cellules de la couche externe s'aplatissent selon l'axe PA-PV. **Divisions actives** avec un fuseau mitotique orienté tangentielllement à la surface de la gastrula.

Au-dessous, les cellules s'intercalent selon les rayons de la gastrula : **intercalation radiaire**. Les cellules profondes changent de forme, émettent des **prolongements cytoplasmiques** appelés **interdigitations** qui progressent vers les cellules externes : les cellules profondes s'intercalent entre les cellules adjacentes.

→ Les cellules de la calotte animale, progéniteurs de l'ectoderme, tendent à recouvrir la gastrula.

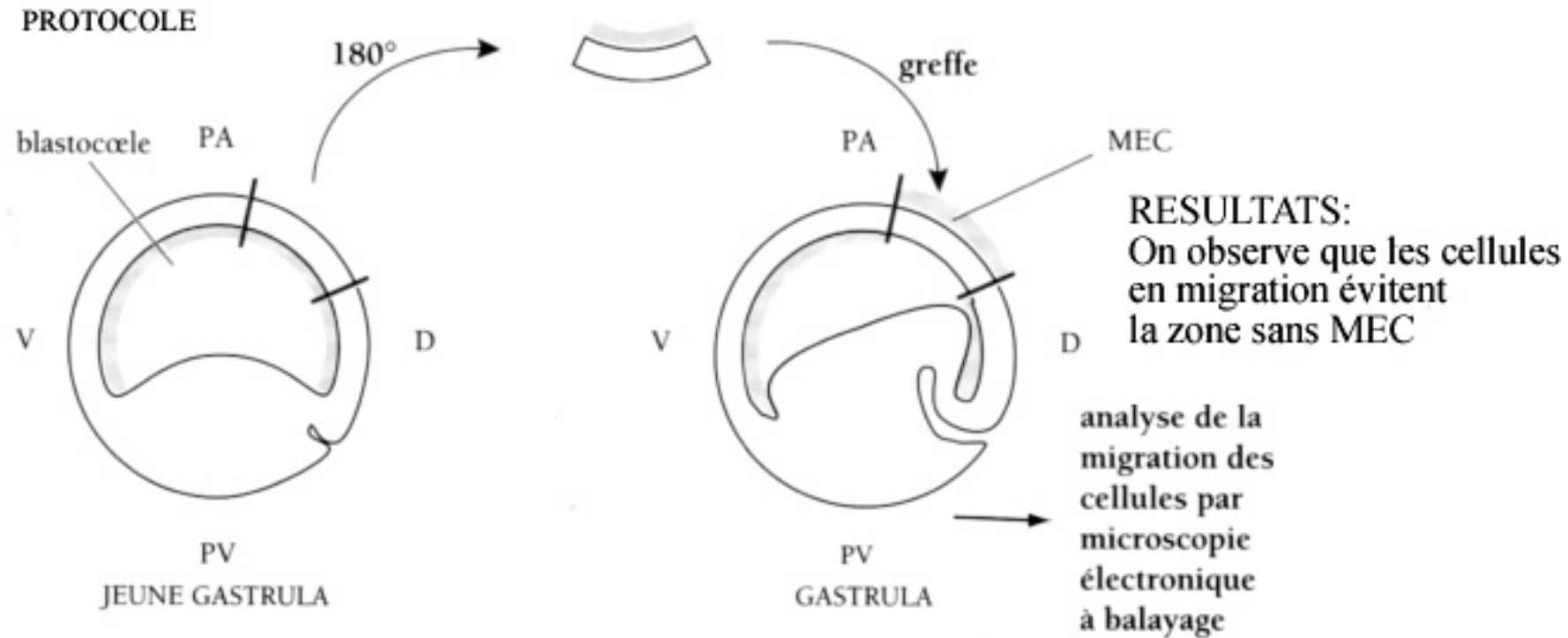
Cellules de HA poussées vers l'HV et recouvrent tout l'embryon. À la fin de la gastrulation, le toit du blastocœle ne comporte plus que **deux assises de cellules**.

À l'échelle moléculaire : **renforcement de l'adhérence intercellulaire** dépendant des **cadhérines** et des interactions des cellules avec la MEC dépendant de la **fibronectine**.

**Doc 16 : Analyse expérimentale
du rôle de la MEC et de la
fibronectine**

Reconnaissance entre la
fibronectine de la MEC -
intégrine transmembranaire.

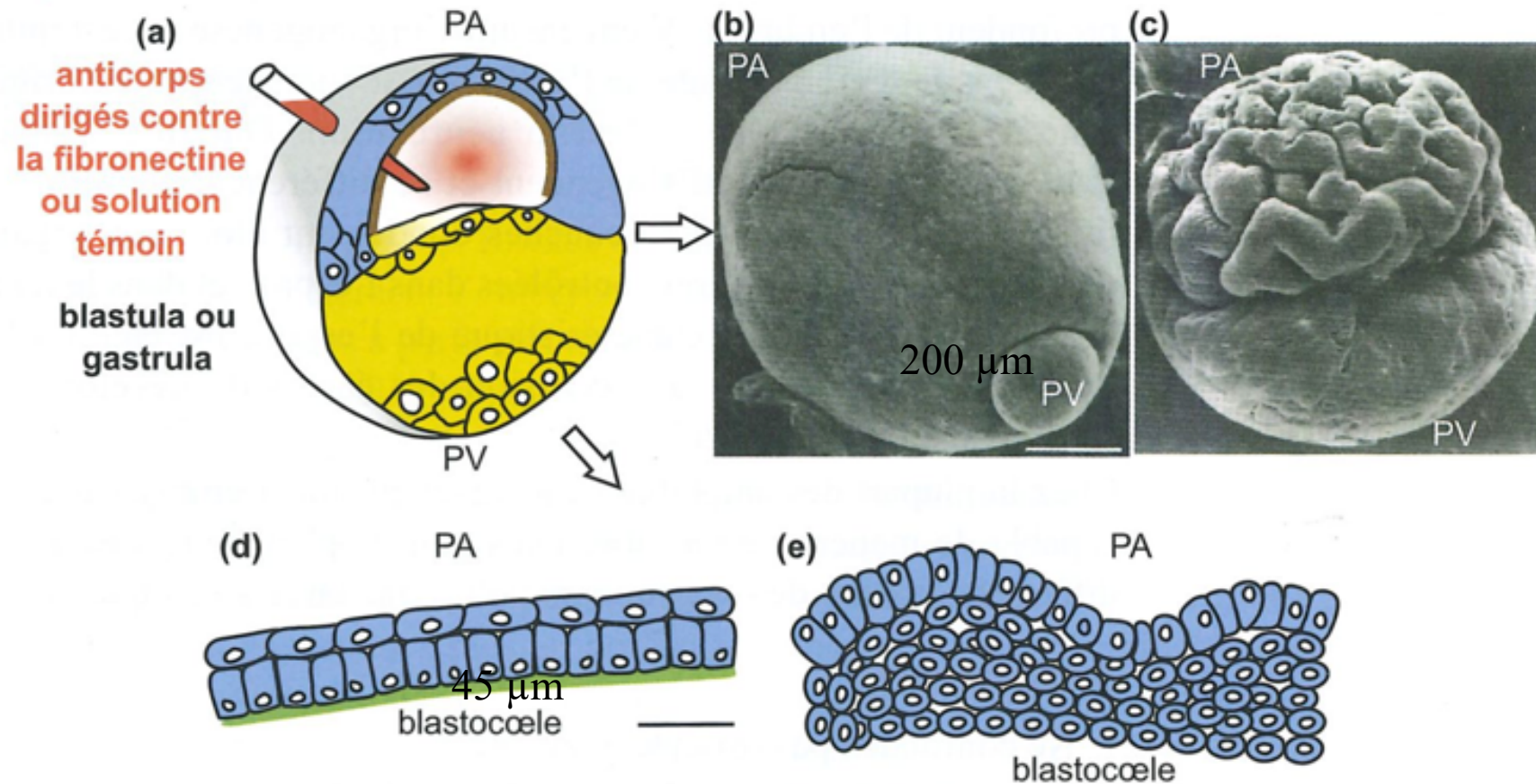
Intégrine reliée au
cytosquelette des cellules
mésodermiques par des
protéines de liaison
→ cascade de signalisations
→ acquisition du **phénotype
migratoire** nécessaire aux
déplacements des cellules.



Mise en évidence du rôle de la matrice extracellulaire pendant la gastrulation. Un fragment du toit du blastocœle est prélevé sur une jeune gastrula. Il est inversé de 180° puis greffé au devant du front de migration des cellules du mésoderme. Il est créé ainsi au-devant des cellules qui migrent une région dépourvue de matrice extracellulaire. L'analyse par microscopie électronique à balayage révèle que les cellules du mésoderme évitent la région dépourvue de matrice [D'après Boucaut et coll. 1984].

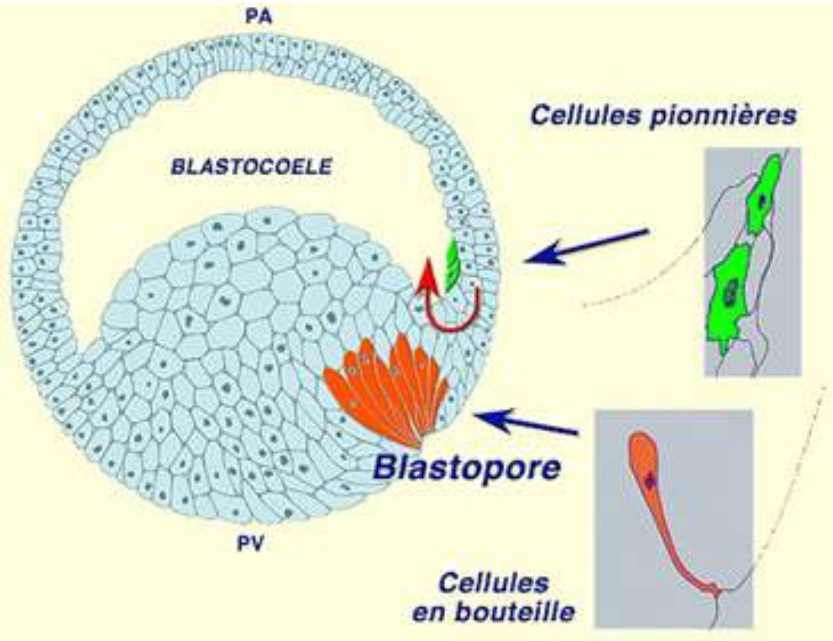
Solution témoin (b, d) ou anticorps dirigés contre la fibronectine (a, c, e) microinjectés dans le blastocœle d'une blastula et analyse du phénotype obtenu par microscopie électronique à balayage (stade bouchon vitellin) et par immuno-histologie (stade mi-gastrulation).

Pour l'immuno-histologie : embryons fixés et CT réalisées. Après lavage, les coupes sont incubées avec des anticorps I^{aires} anti-fibronectine et II^{aires} fluorescents (verts) ;

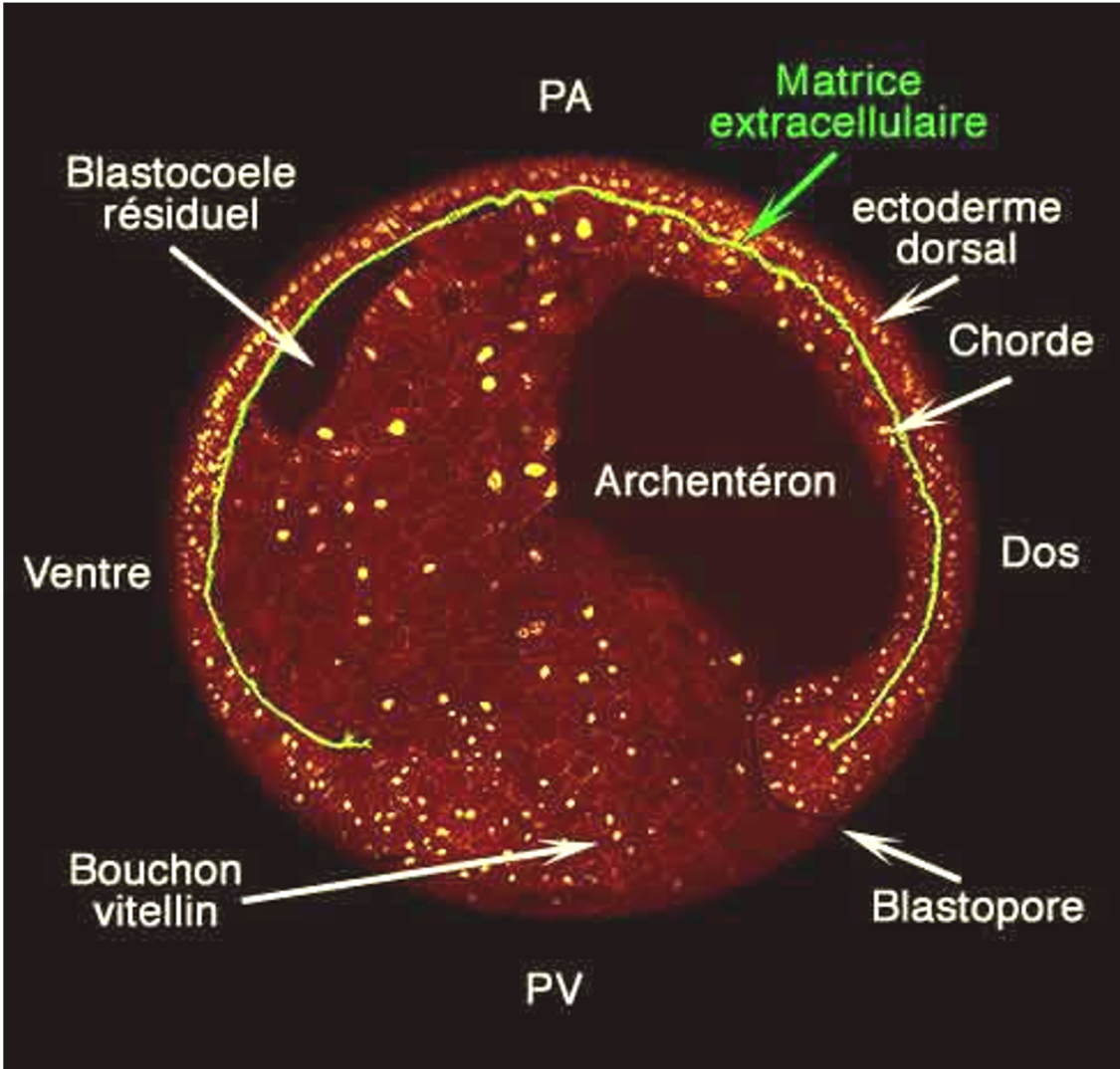
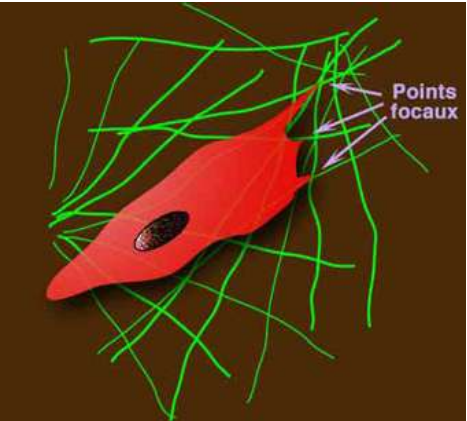


(d) représentation schématique du toit du blastocoele après l'injection de la solution témoin ; (e) après l'injection des anticorps anti-fibronectine.

DE 17 : Détail de la lèvre dorsale du blastopore et involution-invagination (embolie)

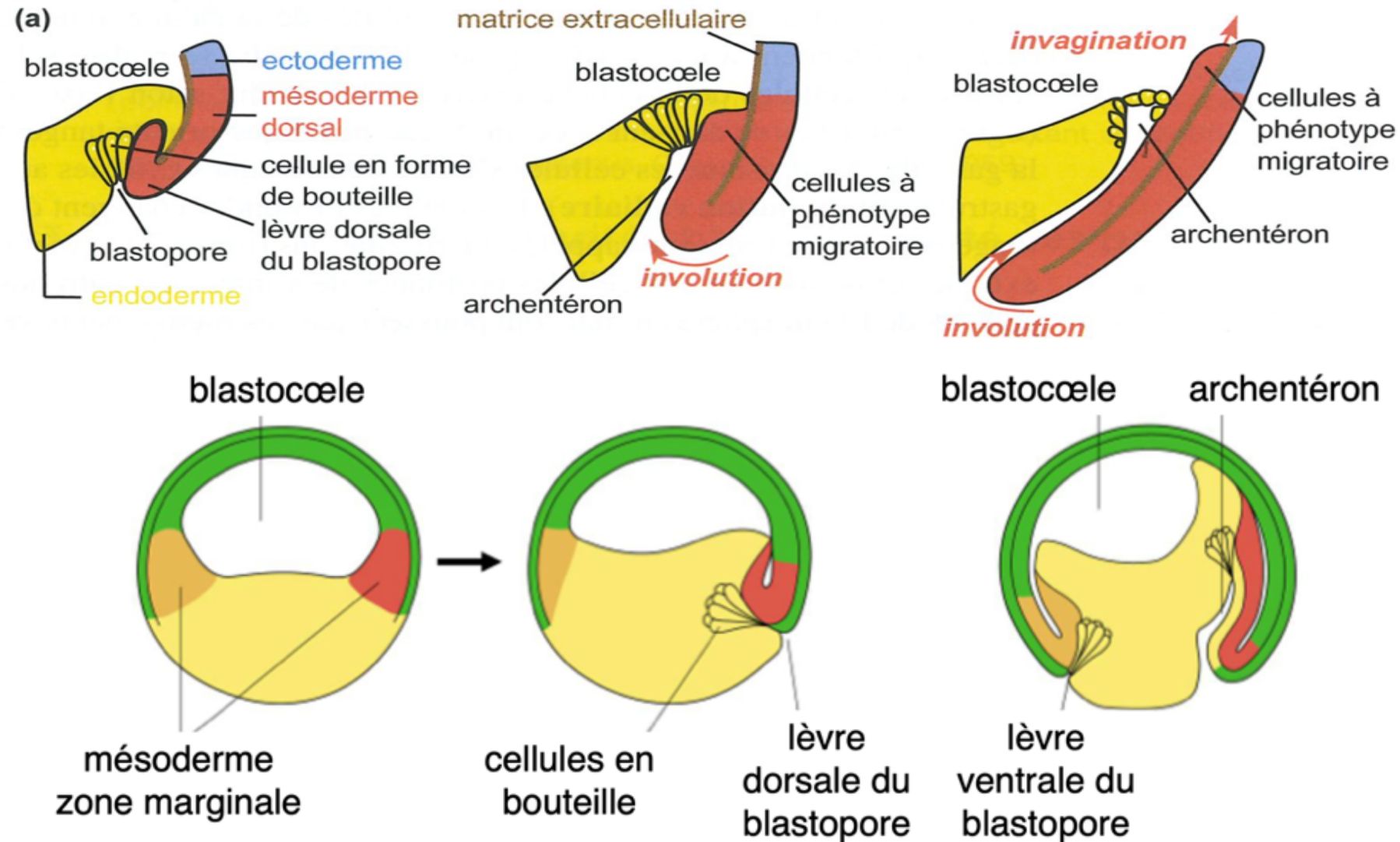


Au-dessous de l'équateur et à l'intérieur de la gastrula, des blastomères végétatifs changent de forme et acquièrent un **phénotype en forme de bouteille** : contraction du cytosquelette d'actine dans la région apicale et polymérisation des microtubules qui allonge les corps cellulaires vers l'intérieur de l'embryon.



Les mécanismes cellulaires

Étant donné qu'elles sont liées aux blastomères voisins, leur déformation synchrone conduit à une traction vers l'intérieur des cellules de la gastrula et impose la formation d'une dépression dans cette région, l'encoche du blastopore.



Formation des cellules en bouteille progresse latéralement et ventralement → mise en place des lèvres latérales puis de la lèvre ventrale du blastopore. La formation du blastopore débute au niveau des blastomères végétatifs dorsaux, juste en dessous du croissant gris.

La dynamique des cellules en bouteille initie la formation du blastopore mais aussi les mouvements d'involution et d'embolie.

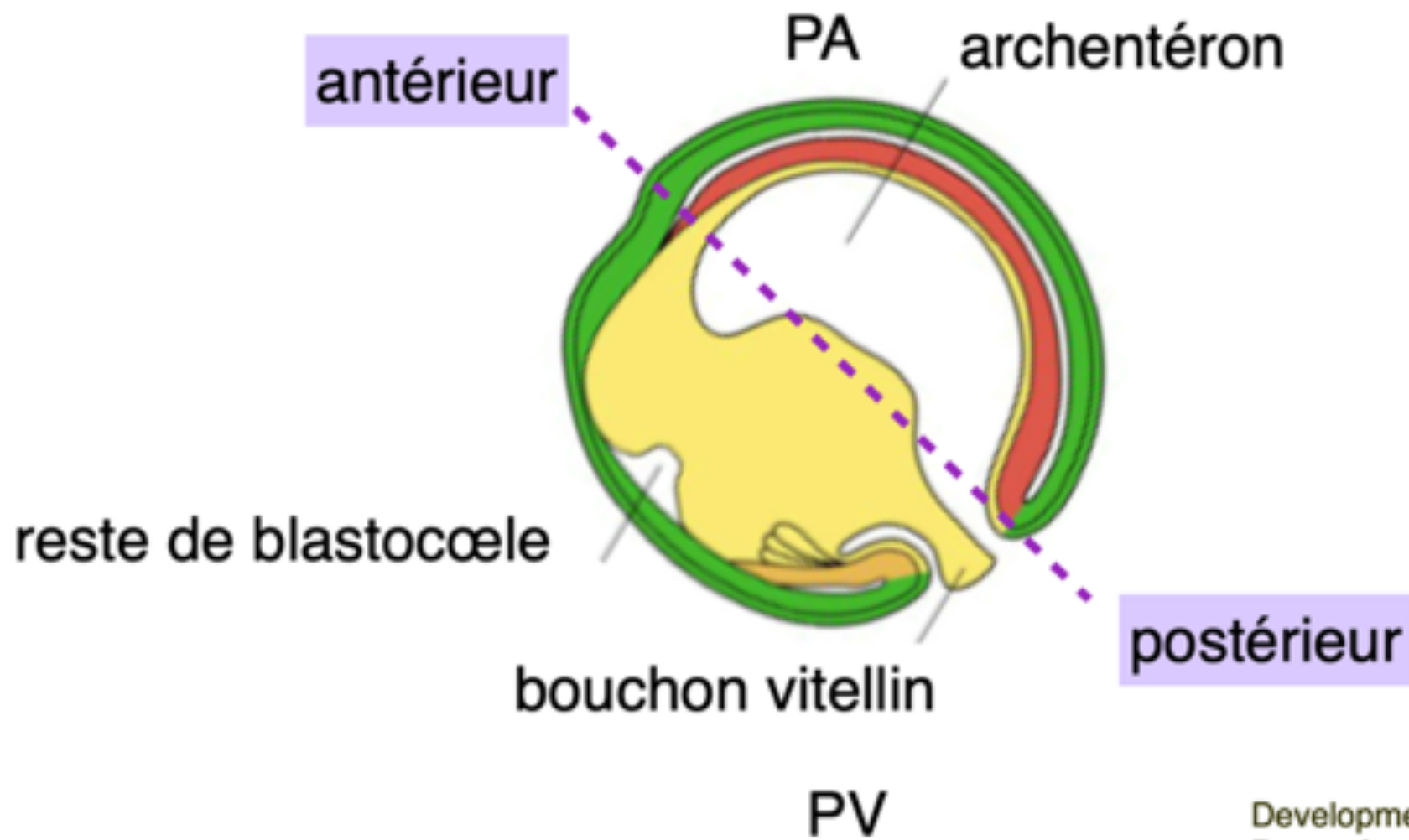
Le mouvement morphogénétique d'involution concerne les progéniteurs du mésoderme.

Après leur involution, elles se retrouvent au contact de la MEC du toit du blastocœle = support pour leur déplacement.

Actives au démarrage de la gastrulation puis poursuite des mouvements initiés ensuite réalisée par la reptation des cellules mésodermiques → involution du mésoderme.

Intégrines membranaires + réseau de fibronectines de la MEC = contacts focaux.

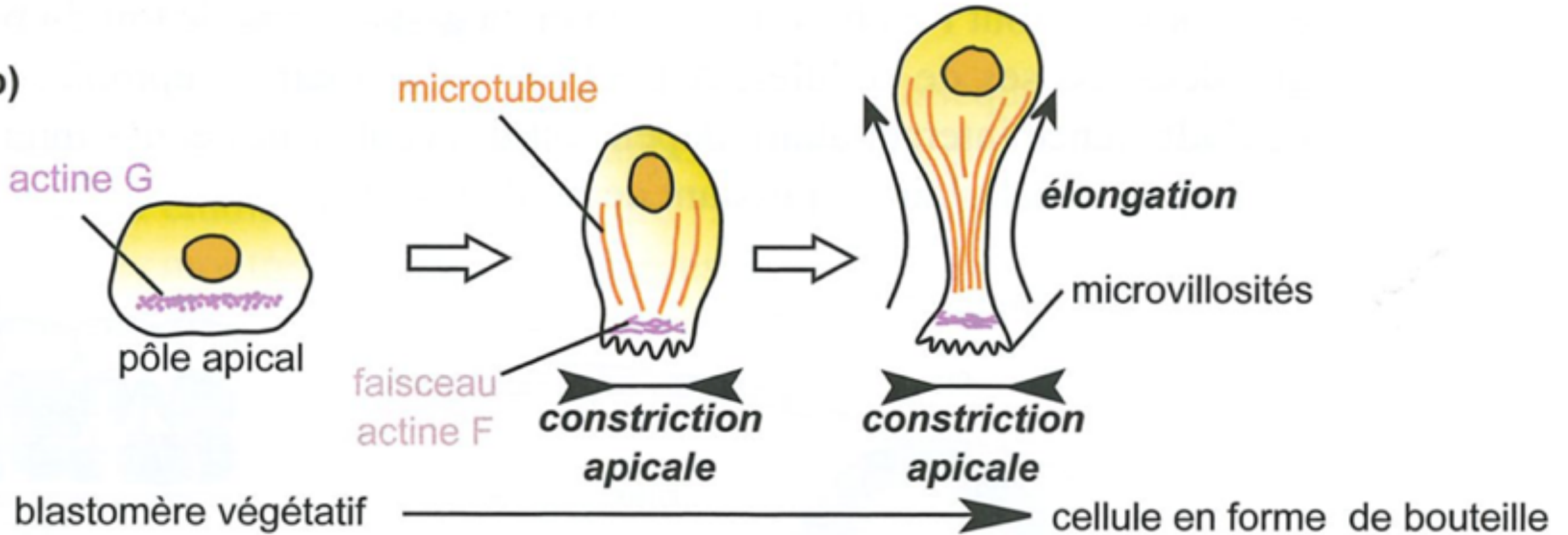
Polymérisation de l'actine intracellulaire → progression des cellules → mésoderme involué progresse vers le PA de l'embryon en rampant sous l'ectoderme. Ce mouvement prend le relais de l'activité des cellules en bouteille.



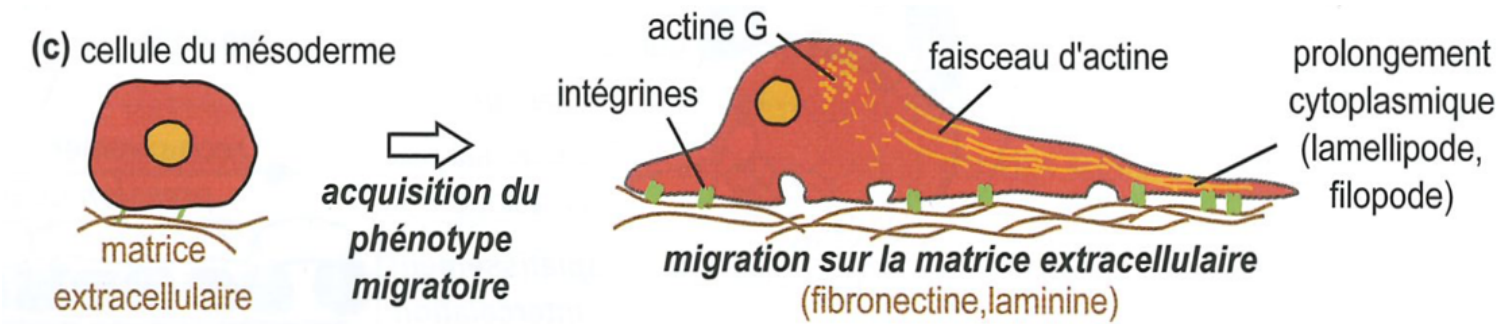
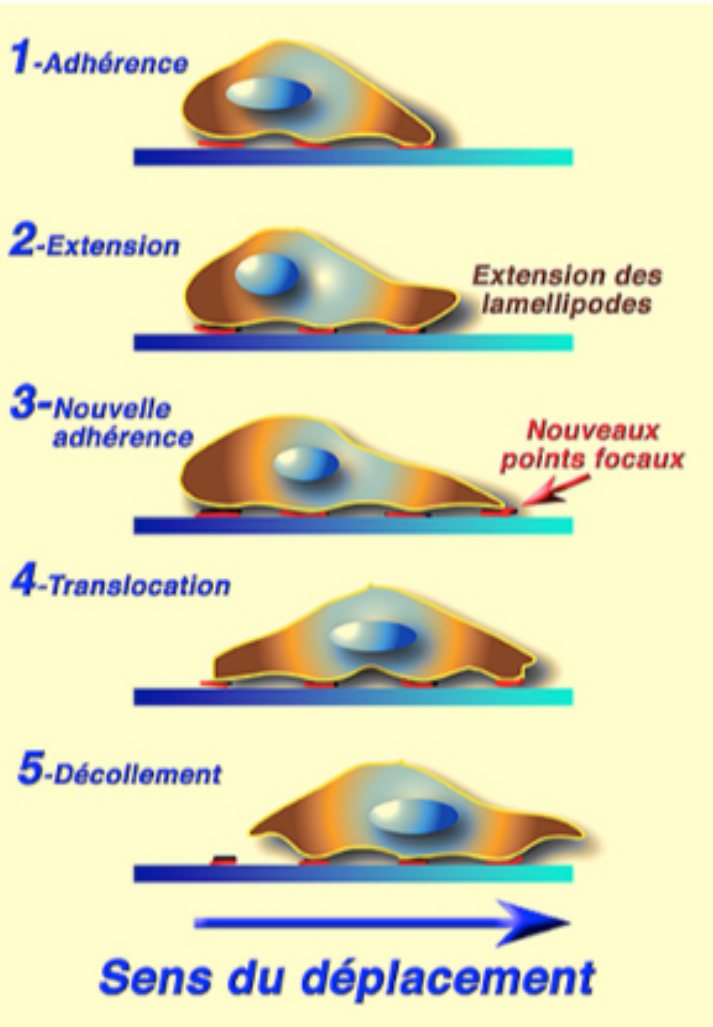
apparition de l'axe
antéro-postérieur
issu de PA-PV

(b) La constriction apicale des cellules en forme de bouteille

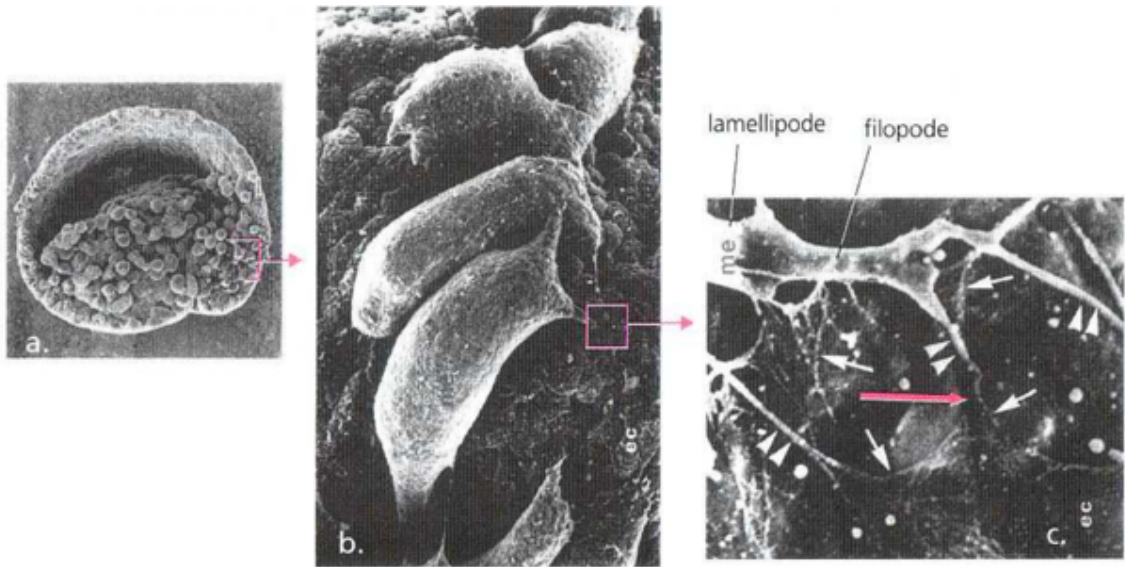
(b)



DE 18 : Migration d'une cellule mésodermique sur le toit du blastocœle grâce à la formation de jonctions via l'intégrine

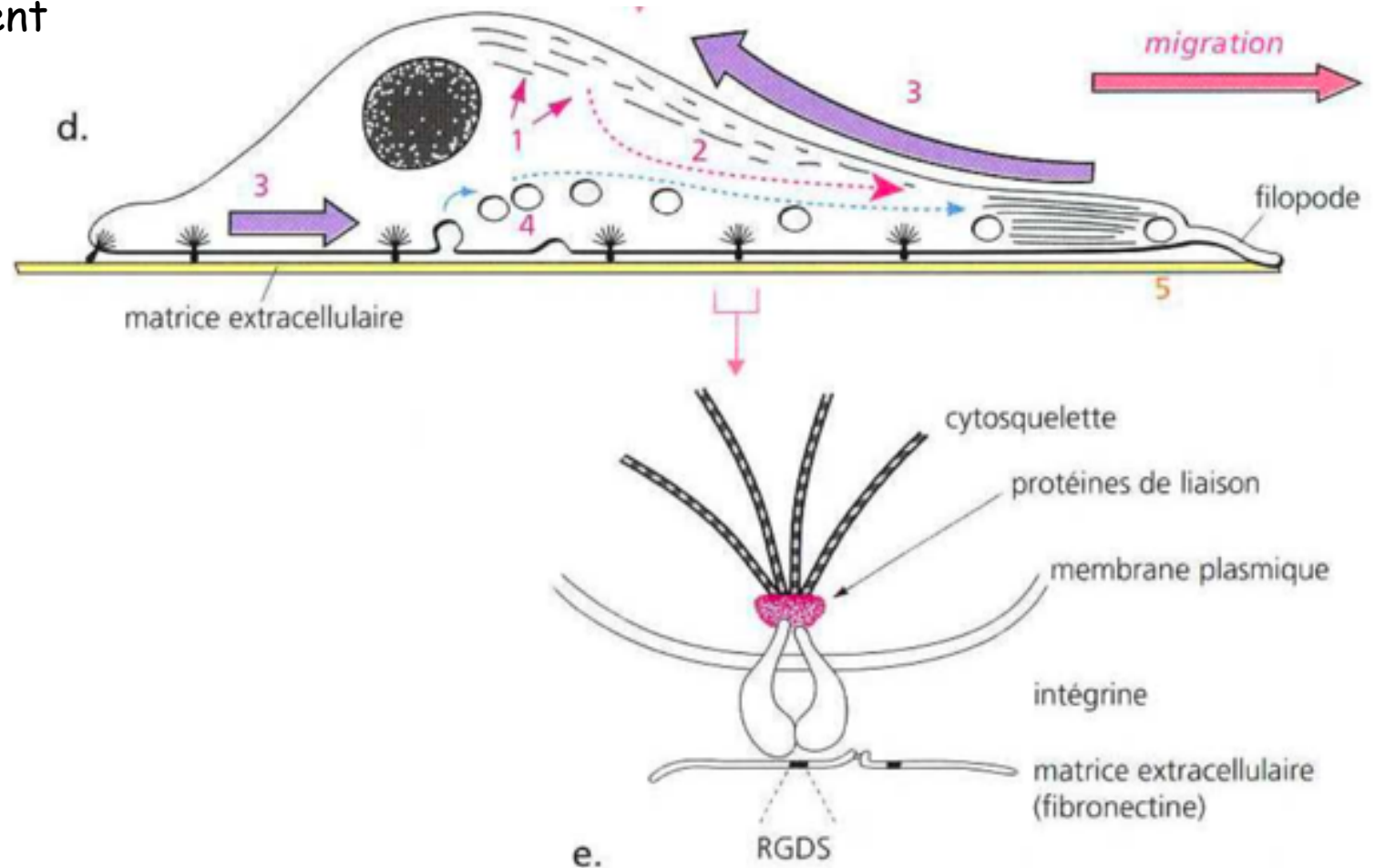


a. Fracture réalisée dans le plan de symétrie sur une jeune gastrula d'un amphibien urodèle. Observation au MEB. b. Détail des cellules en migration sur le toit du blastocœle. c. Détail de l'extrémité d'un lamellipode montrant les filopodes qui entrent en contact avec les fibrilles de la matrice extracellulaire.



d. La migration des cellules fait probablement intervenir différents mécanismes

1. autour du noyau, les microfilaments d'actine se dépolymérisent;
2. l'actine diffuse vers le lamellipode et le filopode où elle est intégrée aux microfilaments qui s'allongent et favorisent l'extension vers l'avant;
3. la fluidité de la double couche phospholipidique de la membrane plasmique produit un flux membranaire dont la résultante va dans le sens de la migration de la cellule;
- 4-5. Enfin un cycle d'endocytose-exocytose intervient



III-LA GASTRULATION : MOUVEMENTS MORPHOGENETIQUES ET POSITIONNEMENT DES TROIS FEUILLETS EMBRYONNAIRES A L'ORIGINE DE L'ETAT TRIBLASTIQUE

III.1. Le suivi du devenir des territoires : la carte des territoires présomptifs

III.2. Les mécanismes cellulaires et moléculaires des mouvements gastruléens

III.2.1. L'épibolie : mitoses, aplatissement et intercalation des cellules

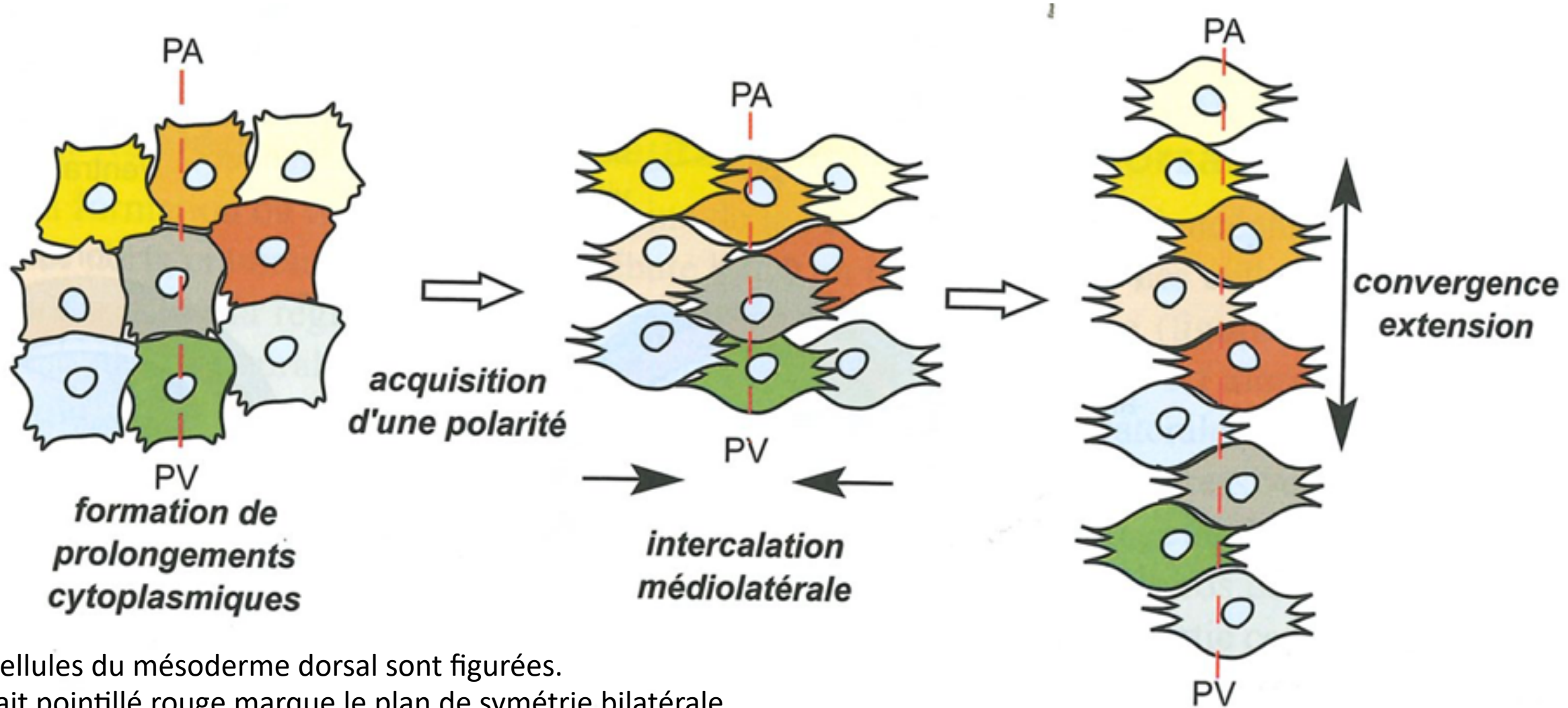
III.2.2. Involution-invagination (embolie) : intervention du cytosquelette, motilité cellulaire

III.2.3. La convergence-extension : intercalation des cellules

III.2.4. Le mouvement de rotation de l'endoderme

III.3. Modifications dans l'expression des molécules d'adhérence et séparation des 3 feuillets embryonnaires

DE 19 : Les mécanismes cellulaires de la convergence-extension



Les cellules du mésoderme dorsal sont figurées.
Le trait pointillé rouge marque le plan de symétrie bilatérale.

Mouvements de convergence-extension engagent les cellules de la zone marginale qui acquièrent une bipolarité liée à la mise en place de prolongements cytoplasmiques.

Exple: cellules du mésoderme dorsal s'allongent perpendiculairement à l'axe PA-PV et s'intercalent les unes entre les autres → rassemblement, dans le plan de symétrie bilatérale, des cellules situées de part et d'autre : c'est l'intercalation médiolatérale.

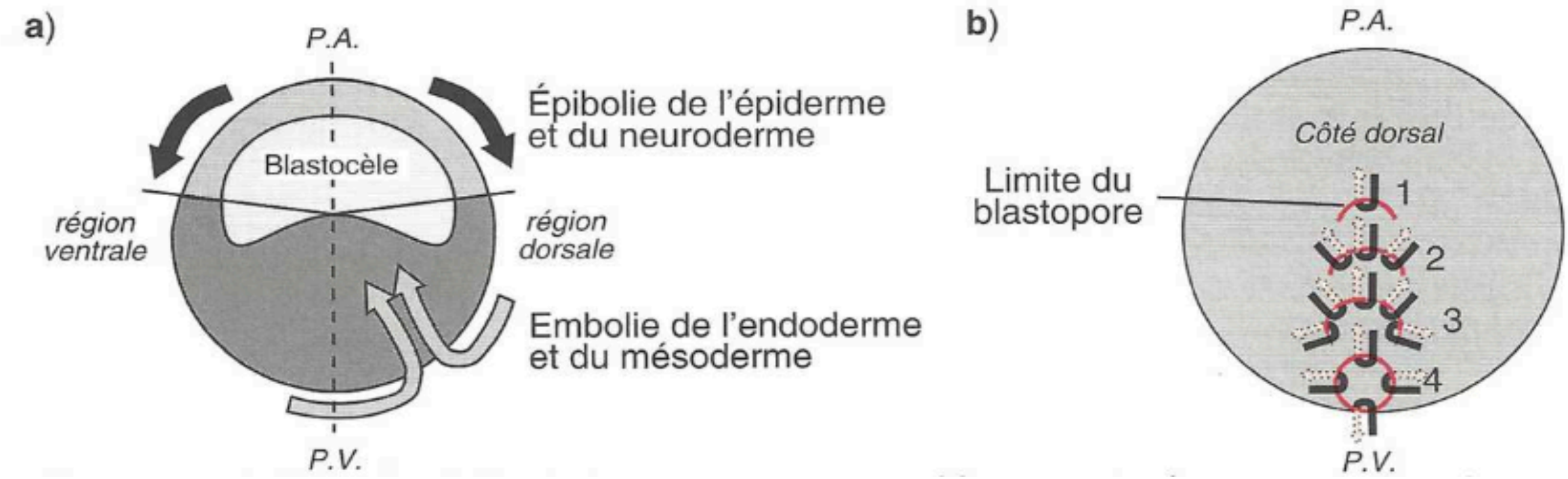
Après leur involution, cellules du mésoderme dorsal, latéral et ventral migrent et s'intercalent médiolatéralement et convergent →

- ✓ feuillet s'étend vers la future région antérieure de l'embryon (extension).
- ✓ extension vers la région postérieure de l'embryon, vers le blastopore.

La poussée exercée par les mouvements de convergence-extension favorise en synergie avec le mouvement d'épibolie au recouvrement du bouchon vitellin.

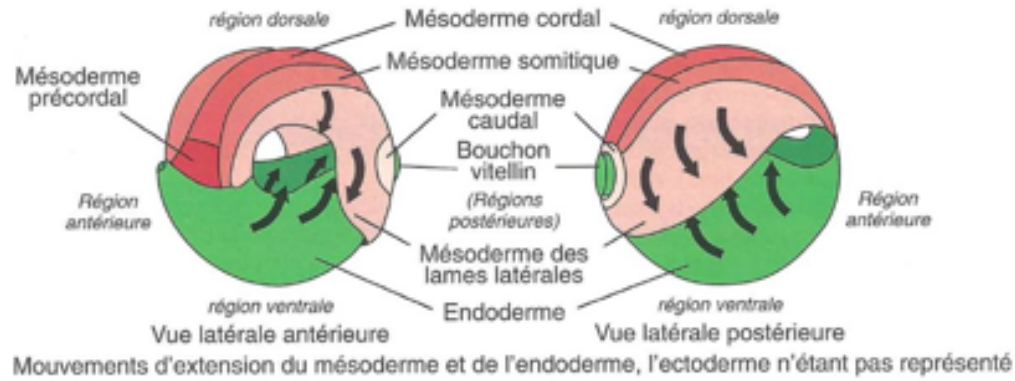
III.2.4 Le mouvement de rotation de l'endoderme

Région dorsale : cellules du plancher du blastocœle progressivement poussées et plaquées contre les cellules de son toit → **montée de l'endoderme** à l'intérieur de la gastrula → prolonge l'initiation de l'invagination liée aux cellules en bouteille et maintient les cellules du mésoderme contre la MEC du toit du blastocœle.



DE 20 : Représentation schématique simplifiée montrant l'évolution de la position des feuillets embryonnaires lors de la gastrulation.

c)



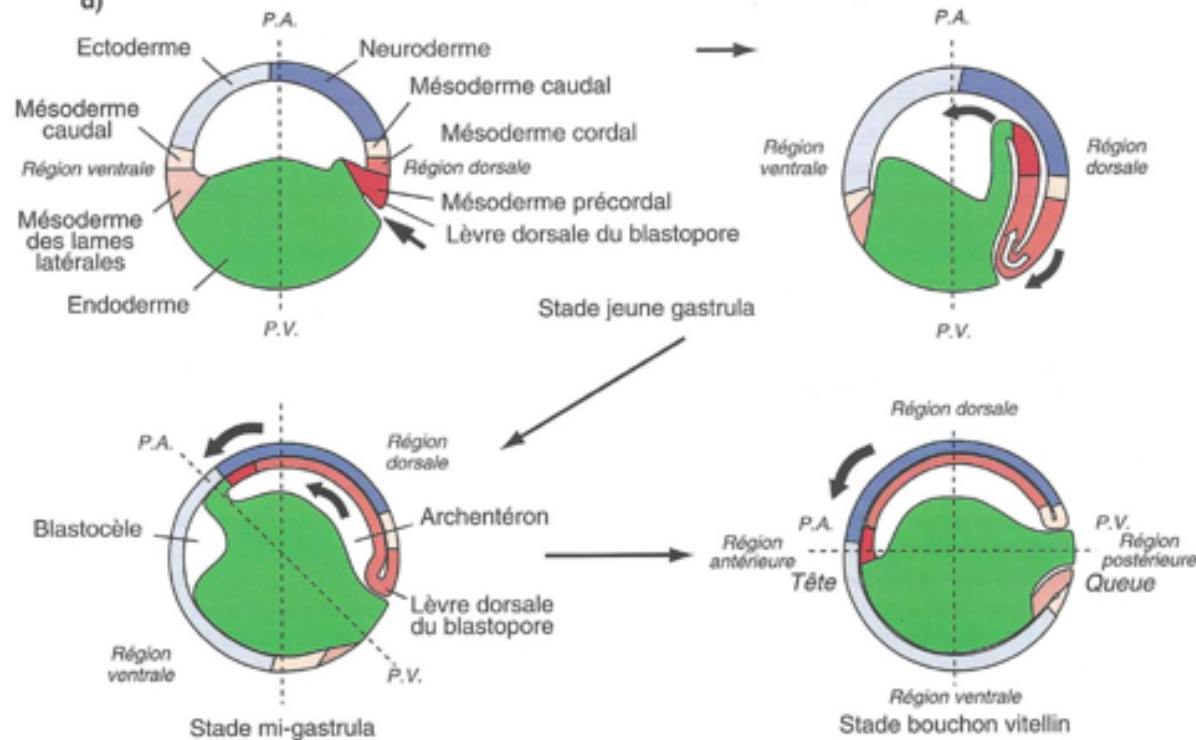
Couleurs conventionnelles de représentation

➤ Les feuillets sont traditionnellement représentés par les **couleurs suivantes** (à respecter dans les copies) qui se déclinent en **teintes variées** :

- **Ectoderme** en **bleu**
- **Endoderme** en **vert**
- **Mésoderme** en **rouge** (voire orangé, rose)

➤ Des variantes existent : par exemple, de nombreux ouvrages modernes utilisent le **vert** pour le **neuroderme** (partie de l'ectoderme) et le **jaune** pour l'**endoderme**.

d)



BILAN DE LA GASTRULATION

La gastrulation est caractérisée par des mouvements de grande ampleur des territoires embryonnaires, et la mise en place des 3 feuilletts embryonnaires emboîtés selon les 2 axes de polarité antéro-postérieur et dorso-ventral.

- une fente se forme au niveau dorsal de l'embryon : le blastopore ;
- L'ectoderme est étiré et agrandi par un mouvement d'épibolie qui le conduit à recouvrir la totalité de l'embryon en fin de gastrulation.
- L'ensemble du mésoderme et de l'endoderme présomptifs est invaginé dans l'embryon au niveau de la fente blastoporale ;
- le mésoderme est invaginé par un mouvement d'enroulement autour des lèvres du blastopore : c'est l'involution ;
- l'endoderme est tracté à l'intérieur de l'embryon par l'ensemble des mouvements et complètement invaginé par la fermeture du blastopore en fin de gastrulation : c'est l'embolie de l'endoderme ;

Apparition d'une nouvelle cavité, l'archentéron, qui préfigure la future lumière du tube digestif et repousse le blastocœle qui disparaît progressivement. Dans un premier temps, son toit est constitué de cellules mésodermiques. Puis par basculement et soulèvement de l'endoderme, il devient endodermique

La gastrulation produit ainsi un organisme animal pluricellulaire triblastique : un embryon à trois feuillets concentriques aux destinées distinctes.

- ✓ ectoderme externe, à l'origine de l'épiderme, du système nerveux et de ses dérivés ;
- ✓ endoderme interne, à l'origine du TD et de ses dérivés, des poumons (grenouille adulte) ;
- ✓ mésoderme intermédiaire, à l'origine de l'ensemble des autres organes et tissus : muscles, squelette, système circulatoire, appareil uro-génital...

L'embolie de l'endoderme déplace le centre de gravité de l'embryon qui pivote dans ses enveloppes et se positionne ventre vers le bas (endoderme dense car riche en vitellus) et dos vers le haut.

En fin de gastrulation, l'axe A-P est mis en place le long de l'ancien axe PA-PV.

IV- L'ORGANOGENESE : MISE EN PLACE DES TISSUS, DES ORGANES ET ACHEVEMENT DU PLAN D'ORGANISATION

IV.1. Isolement d'un tube neural dans la région dorsale : la neurulation

IV.2. Le stade bourgeon caudal et l'achèvement du plan d'organisation d'un vertébré

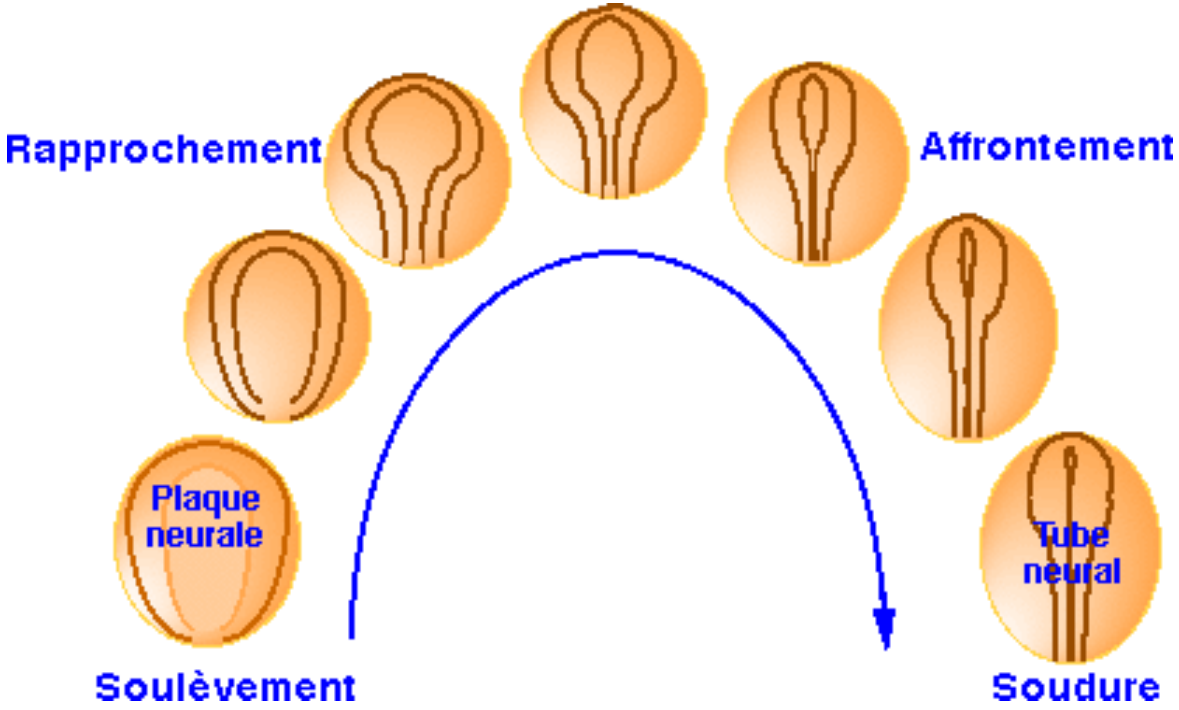
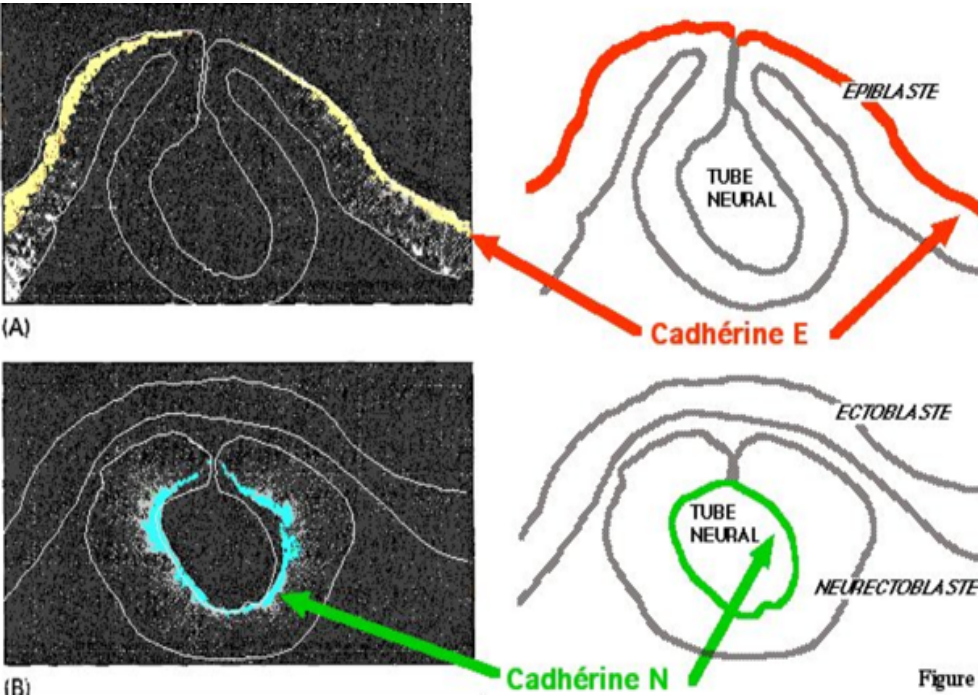
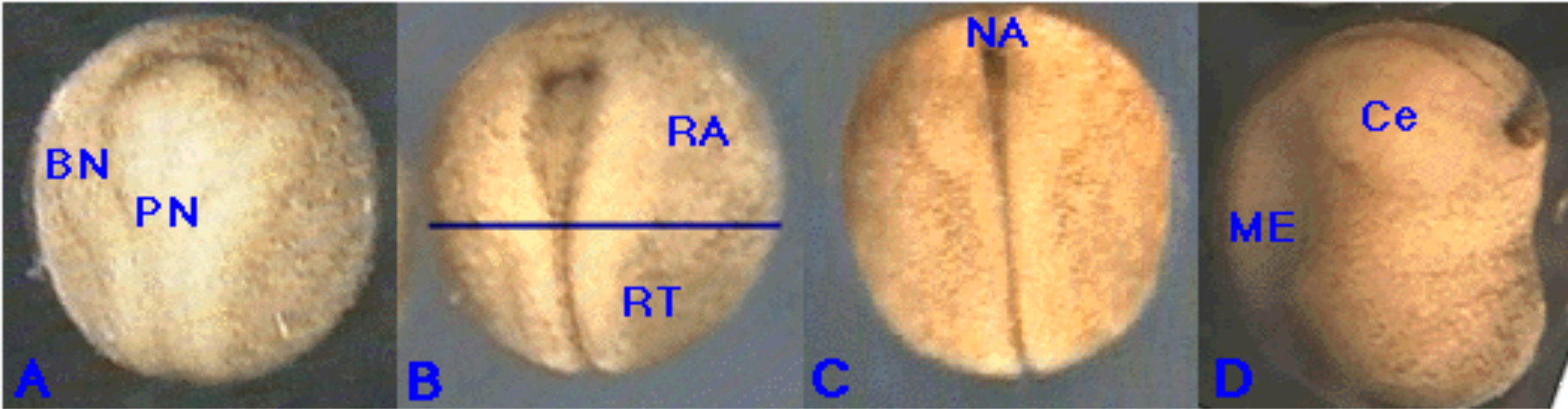
IV.2.1. Les ébauches d'organes

IV.2.2. Les tissus et organes issus des feuilletts embryonnaires

IV.2.3. Les cellules de la crête neurale

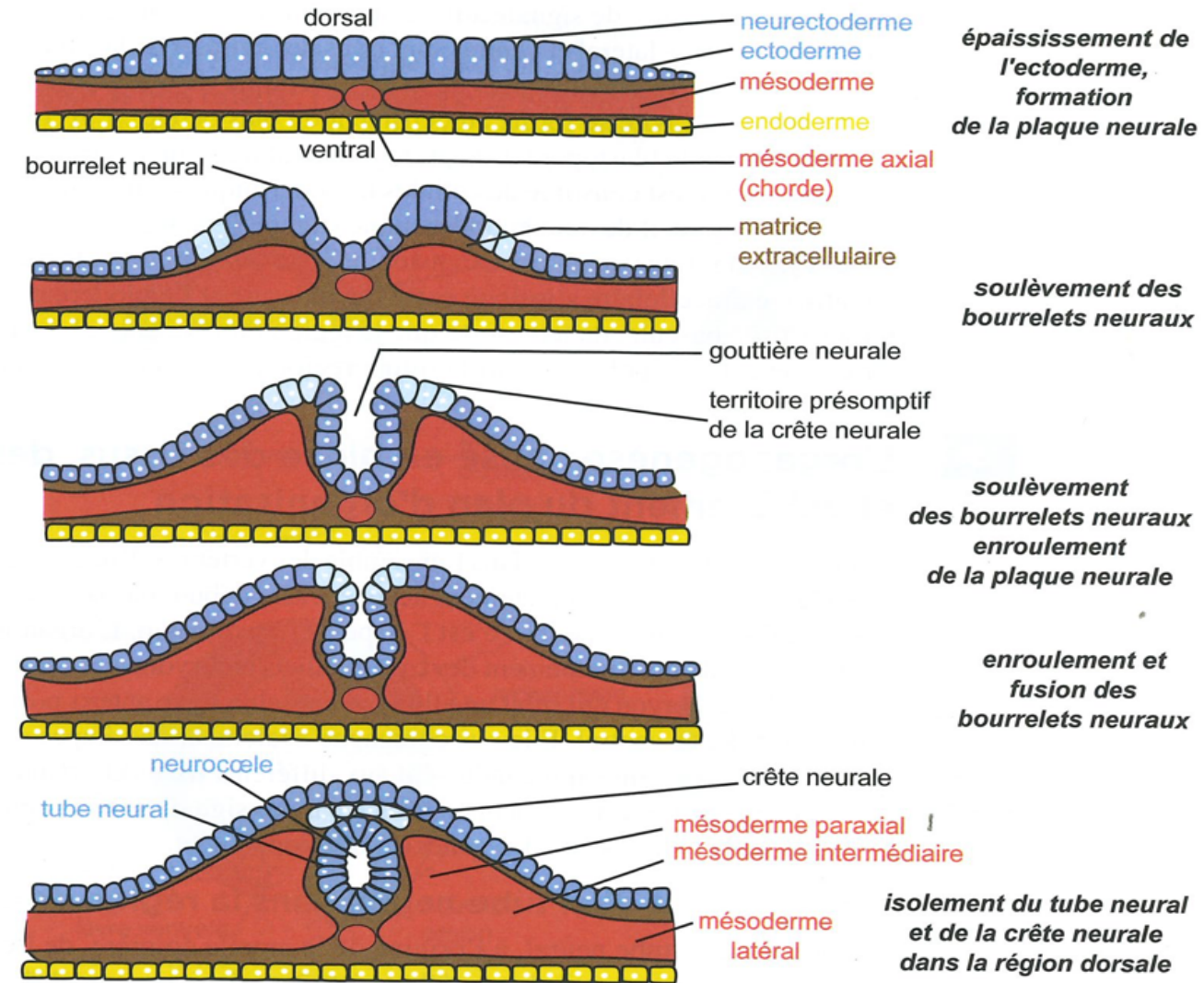
DE 21 : Isolement d'un tube neural dans la région dorsale : la neurulation

Différence d'expression des cadhérines
<http://www.db/embmol/embmol.html>



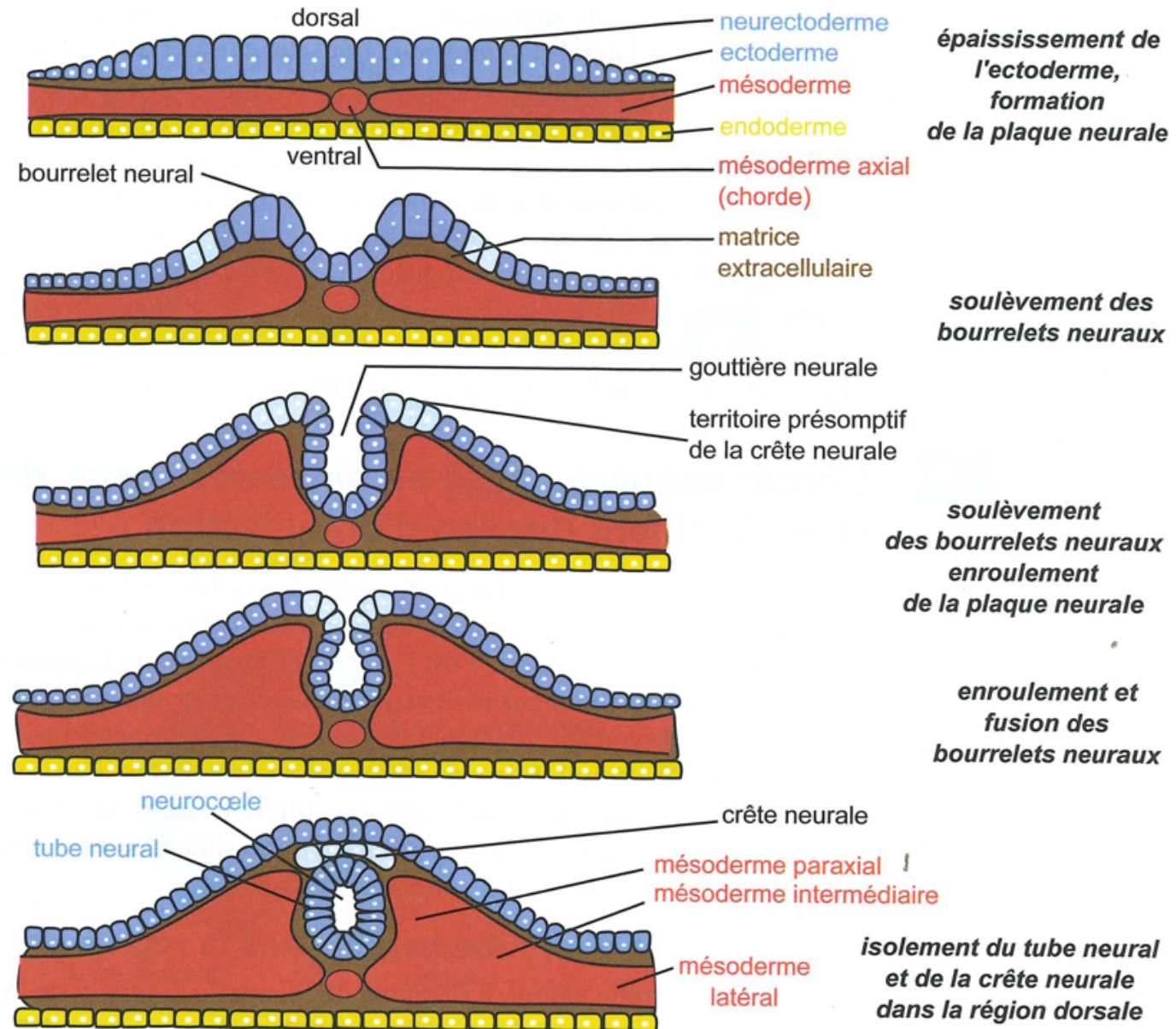
La formation du TN débute par à un épaississement des cellules ectodermiques dorsales de la région médiane de l'embryon : le **neurectoderme** → **plaque neurale** = cellules épithéliales qui s'étendent progressivement sur toute la région dorsale de l'embryon, qualifié de **neurula**.

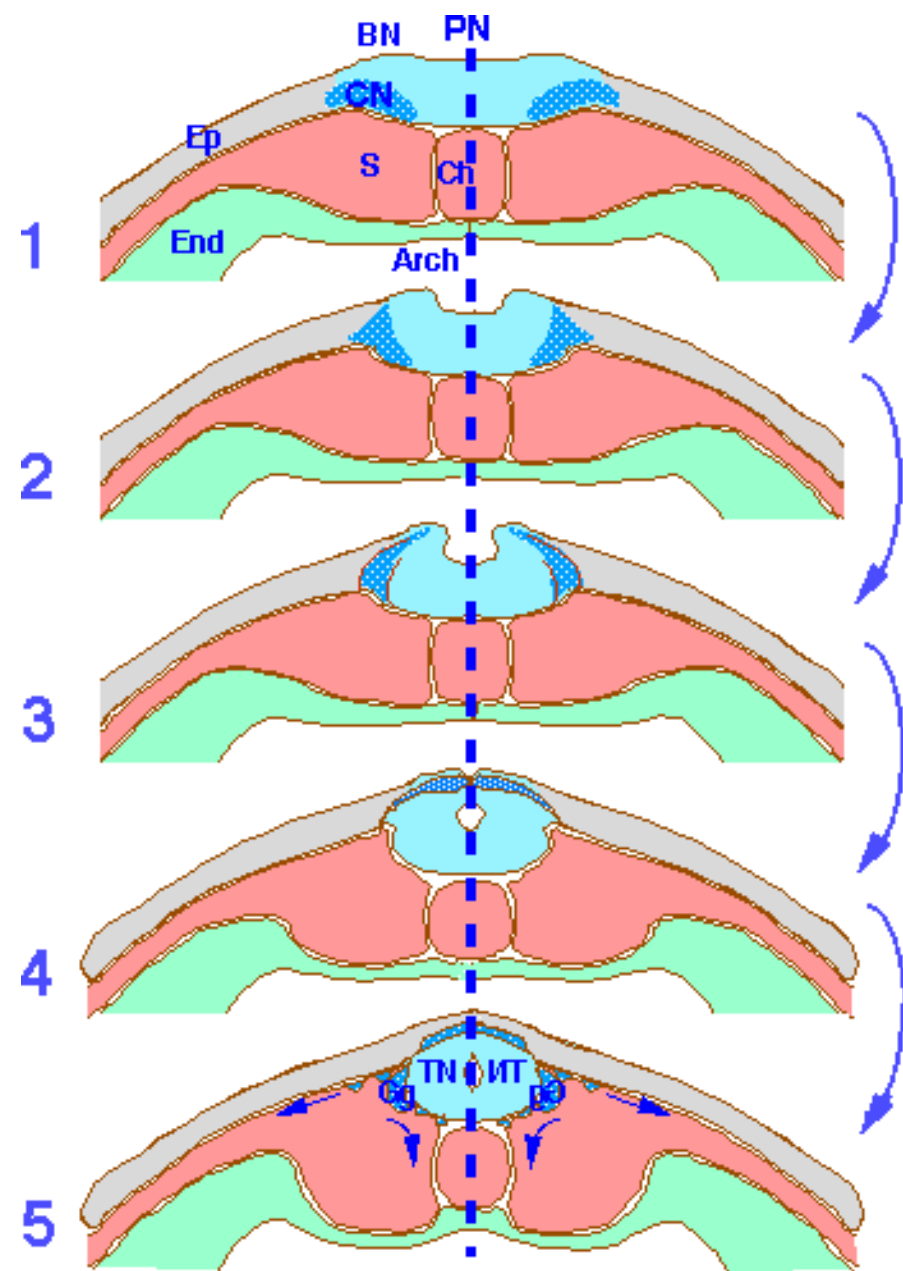
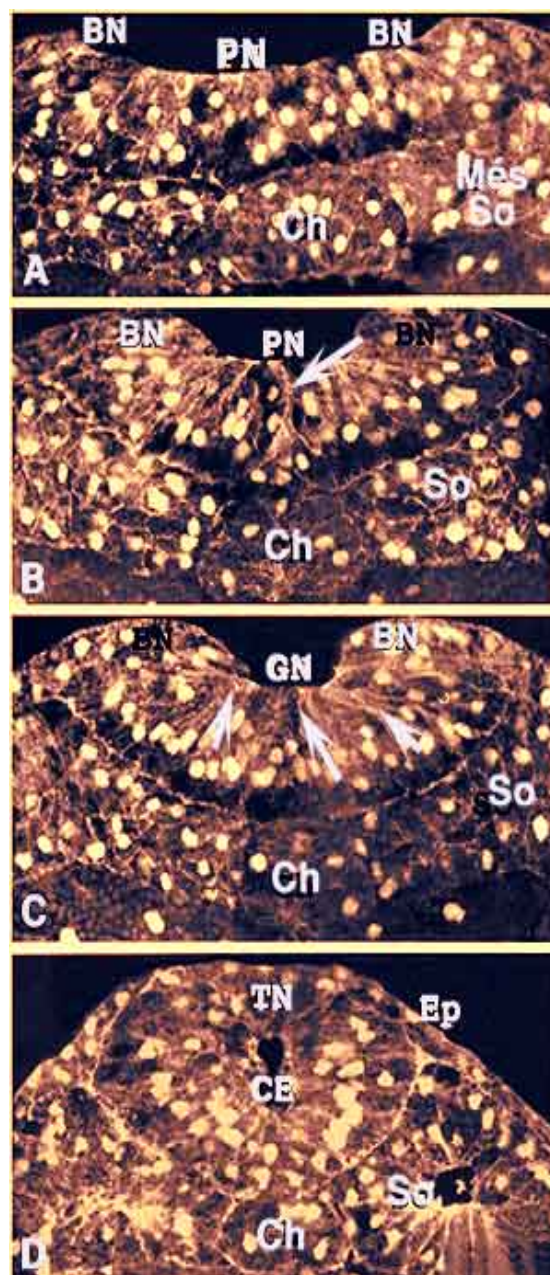
L'épaississement de la plaque neurale n'est pas observé sur des gastrulas incubées en présence de colchicine, inhibiteur de la polymérisation de la tubuline → l'élongation des **microtubules** est responsable de l'allongement des cellules selon l'axe dorso-ventral qui entraîne l'épaississement de la plaque neurale.

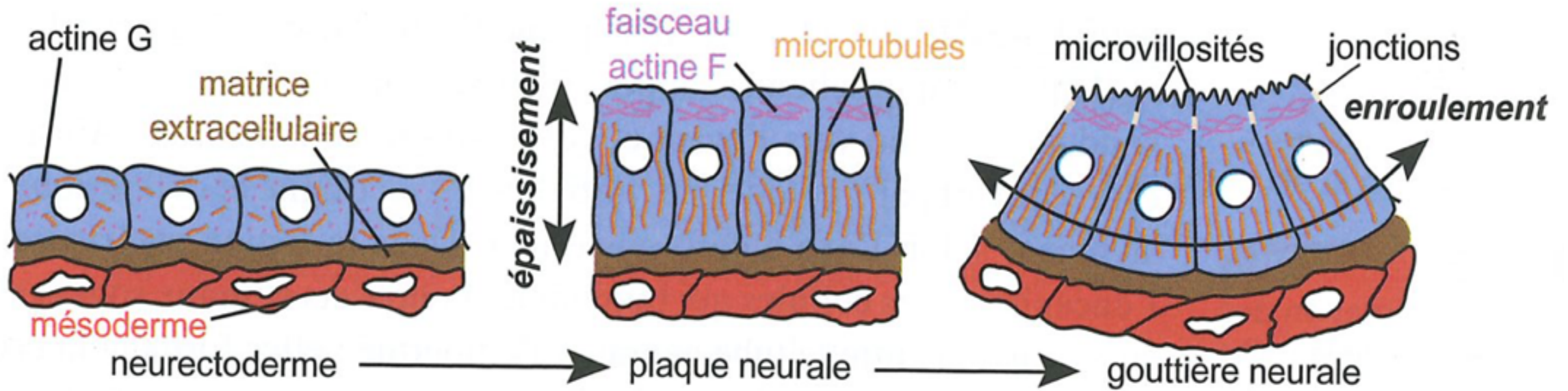


Les bords de la plaque neurale s'épaississent, se soulèvent et forment les bourrelets neuraux. La partie centrale de la plaque neurale se déprime et l'ensemble prend l'aspect d'une gouttière.

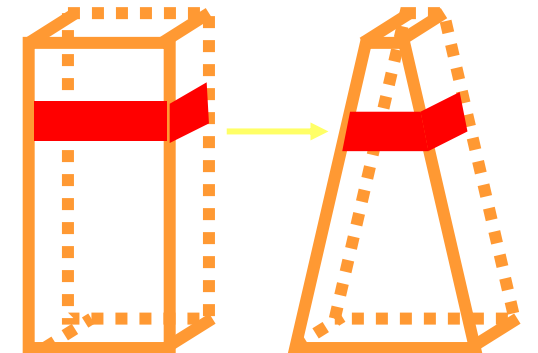
Les bourrelets neuraux s'enroulent, se rapprochent et se soudent, d'abord dans la région troncale, puis la soudure s'entend vers l'avant et vers l'arrière. Ainsi, s'isole le tube neural qui est recouvert par l'ectoderme.







Au pôle apical des cellules qui bordent la plaque neurale, des filaments d'actine forment progressivement des faisceaux disposés en anneaux et connectés à la ceinture d'adhérence. Les faisceaux se contractent conduisant au rétrécissement de l'apex des cellules, c'est la constriction apicale → **changement de forme des cellules** qui favorise l'enroulement du tissu aux bordures de la plaque neurale.



Modification de la forme des cellules du neuroderme : rôle de l'actine dans la constriction

Découverte : L'affinité sélective

1955, Townes et Holtfreter : dissociation complète de l'embryon en le plaçant dans une solution alcaline.

Préparation des cellules isolées à partir des trois feuillets embryonnaires avant la soudure du tube neural puis mélange et incubation dans une solution physiologique → les cellules forment des agrégats et s'assemblent en fonction de leur origine.

Des cellules du feuillet ectodermique se regroupent à la surface de l'agrégat, des cellules issues du feuillet mésodermique se rassemblent à l'intérieur de l'agrégat, et les cellules endodermiques plus en profondeur encore ; la position finale des cellules reflète ainsi la position qu'elles ont dans l'embryon.

Conclusion : en neurulation, les cellules manifestent une affinité sélective.

Cadhérines = clef de voûte de l'affinité sélective et de la ségrégation spatiale des cellules et des tissus. Affinité sélective perdue avec la différenciation des cellules.

Initialement rectiligne et cylindrique, le TN se différencie progressivement selon l'axe A-P. Plaque neurale, plus large dans la région antérieure → **encéphale**. Suit une partie plus étroite, à l'origine de la **moelle épinière**.

Cellules bordant les bourrelets neuraux internalisées, entre TN et épiderme : elles forment la **crête neurale**. Les cellules de ce territoire s'individualisent et migrent dans la **MEC**. Après déplacement, elles participent à la formation des **nerfs crâniens et rachidiens**, les **ganglions nerveux associés**, les **glandes surrénales** et une partie des tissus conjonctifs, des cellules pigmentaires de l'épiderme.

Simultanément, la neurula s'allonge selon l'axe A-P.

Soulèvement des bourrelets neuraux lié à la présence d'acide hyaluronique dans la MEC. Hydrophile → gonflement des espaces intertissulaires, favorisant le soulèvement.

Mécanismes cellulaires impliqués dans la fusion et le recouvrement du tube neural par l'ectoderme mal connus : morts cellulaires programmées, modifications moléculaires.

Cadhérines renforcent et modulent les adhérences intercellulaires nécessaires à la neurulation → affinité sélective entre cellules favorise la ségrégation entre neurectoderme et ectoderme, nécessaire à l'isolement du TN et de la crête neurale.

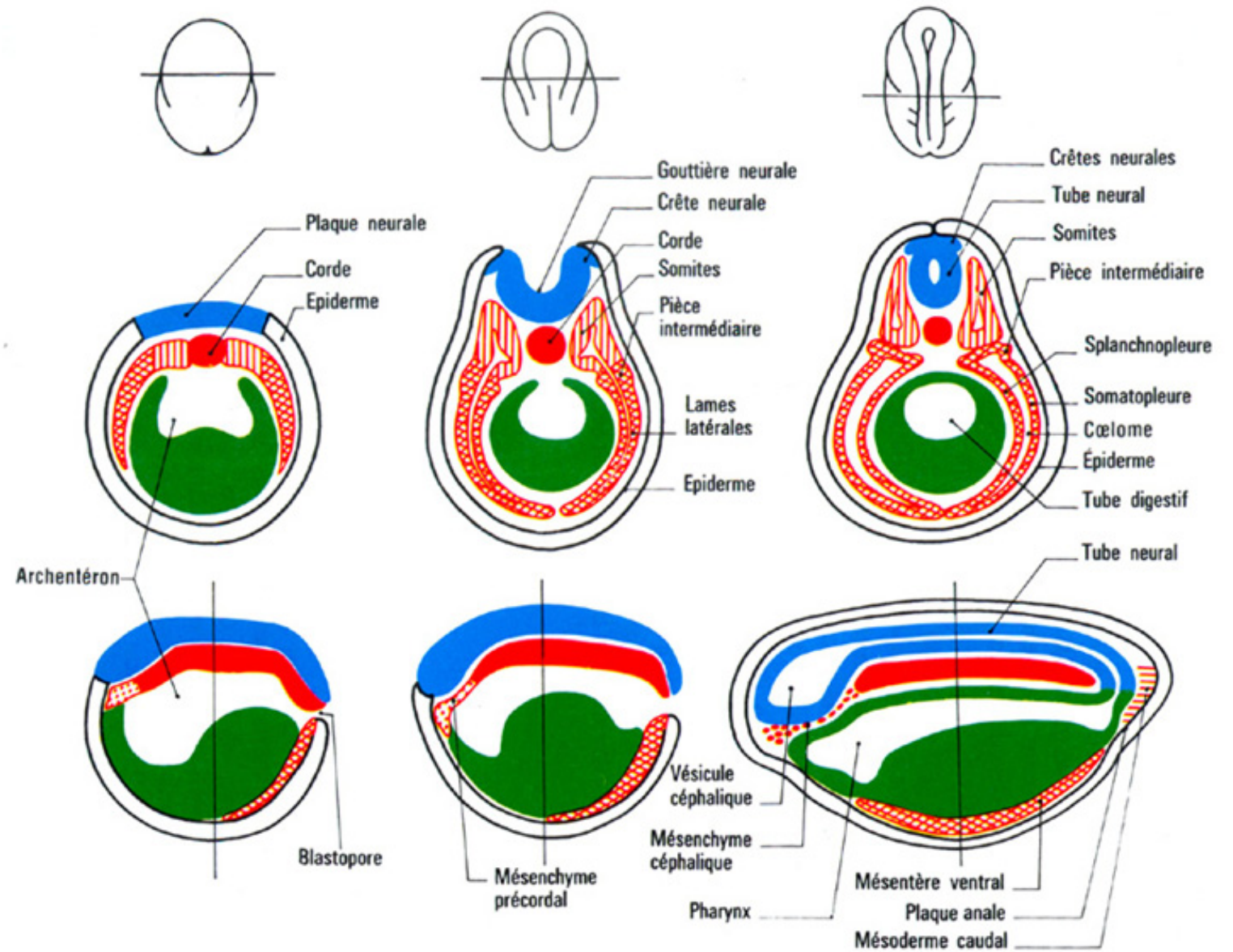
Allongement de l'embryon selon l'axe A-P lié à l'intercalation médiolatérale et longitudinale des cellules et à leur division.

DE 22 : Schémas simplifiés des différentes étapes de la neurulation

Vue de dessus

Coupe transversale

Coupe sagittale

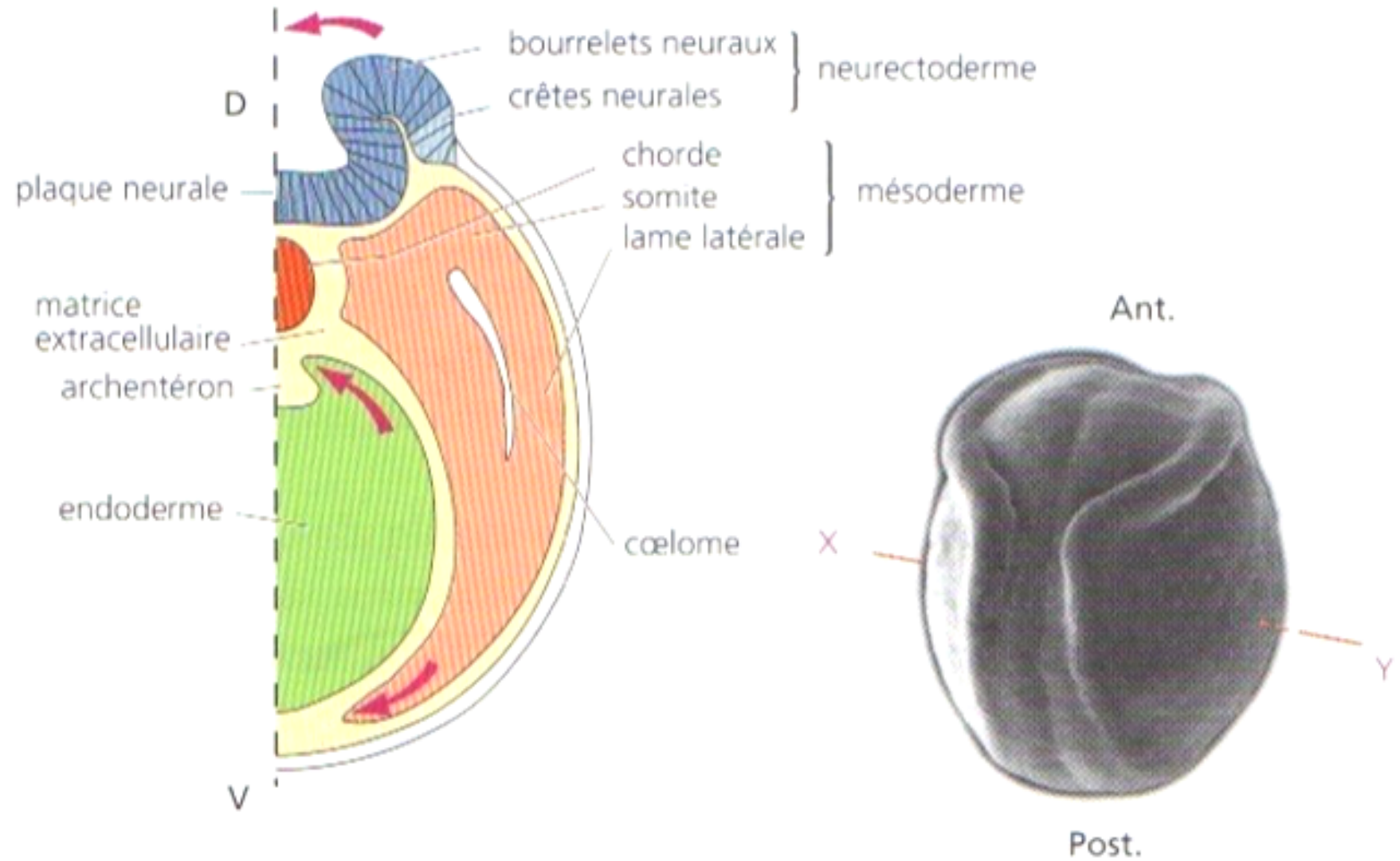


Développement du mésoderme, de l'endoderme en cours de neurulation.

Gauche : coupe transversale.

Droite : vue dorso-antérieure.

D'après Introd. à la biol. du dev., Darribère, 2002.



BILAN :

Le neurectoderme constitue le groupe de cellules qui va construire le tube neural en position dorsale (ÉPINEURIEN) au cours de la neurulation, qui marque le début de l'organogenèse.

La formation du tube neural repose sur des déformations des cellules du neurectoderme, liées à l'activité de leur cytosquelette.

Les mouvements morphogénétiques s'achèvent. Les trois feuillets embryonnaires sont complètement emboîtés et distincts en fin de neurulation :

- ✓ Endoderme : fermeture de l'archentéron au niveau dorsal ;
- ✓ Mésoderme : individualisation de la chorde, des somites et des lames latérales creusées d'une cavité, le coelome.

IV- L'ORGANOGENESE : MISE EN PLACE DES TISSUS, DES ORGANES ET ACHEVEMENT DU PLAN D'ORGANISATION

IV.1. Isolement d'un tube neural dans la région dorsale : la neurulation

IV.2. Le stade bourgeon caudal et l'achèvement du plan d'organisation d'un vertébré

IV.2.1. Les ébauches d'organes

IV.2.2. Les tissus et organes issus des feuillets embryonnaires

IV.2.3. Les cellules de la crête neurale

DE 23a Plan d'organisation au stade du bourgeon caudal

- (a) Vue latérale ;
- (b) coupe sagittale ;
- (c) vue dorsale.

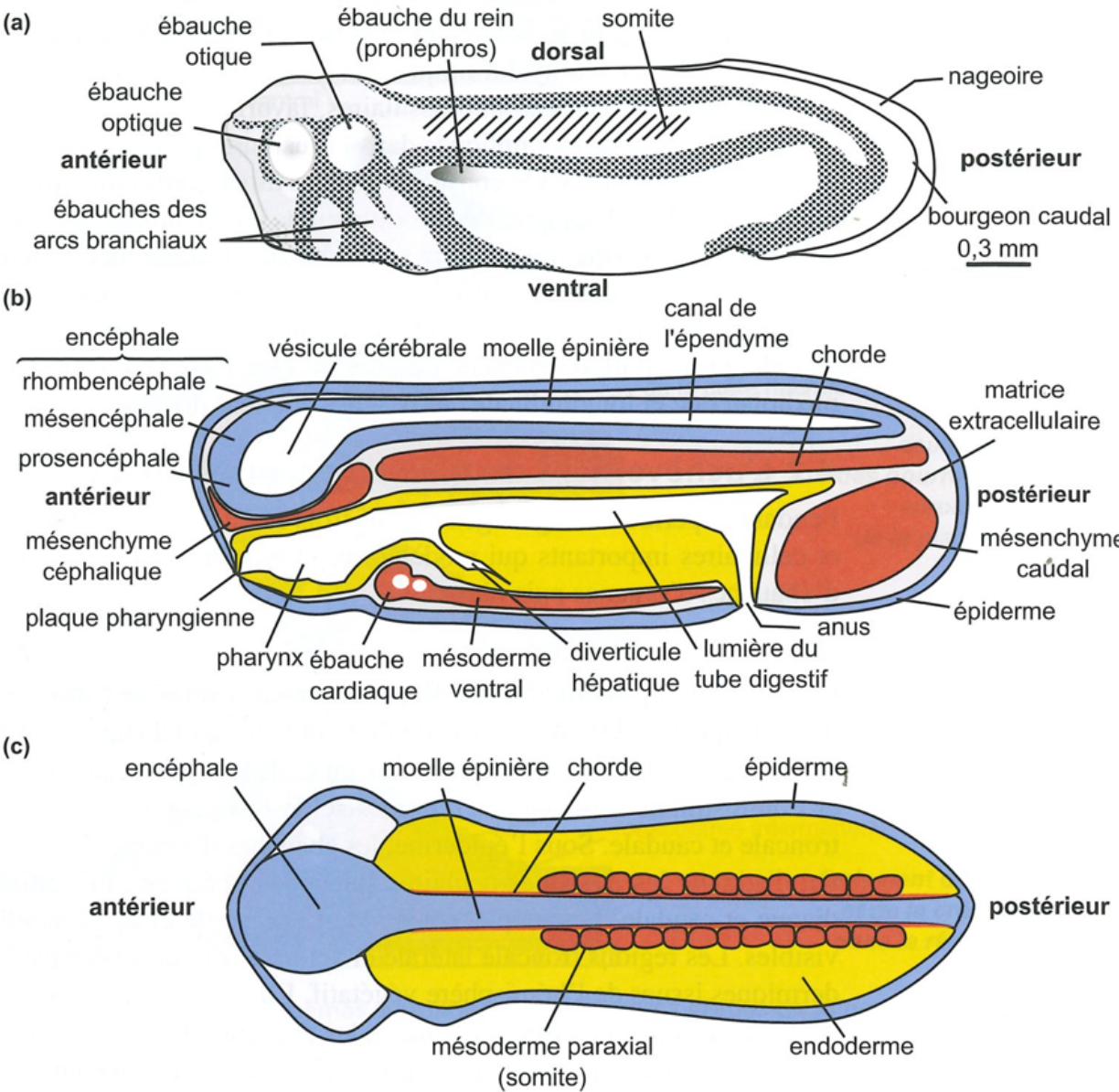
En (b) et (c) la matrice extracellulaire n'est pas figurée. Elle est présente autour des tissus dans les espaces intertissulaires et autour des organes.

Environ 24h après F : l'embryon s'allonge, 3 régions réparties selon l'axe AP : céphalique, troncale et caudale. Sous l'épiderme, les ébauches d'organes font saillie.

Les régions troncale, latérale et ventrale sont occupées par la masse des cellules endodermiques issues de l'HV. Elles seront à l'origine du TD.

Blastopore → anus: Animal deutérostomien : percement de l'anus avant la bouche.

Au stade bourgeon caudal tardif (environ 50 h après la fécondation), l'embryon s'est libéré de ses enveloppes, c'est l'éclosion.

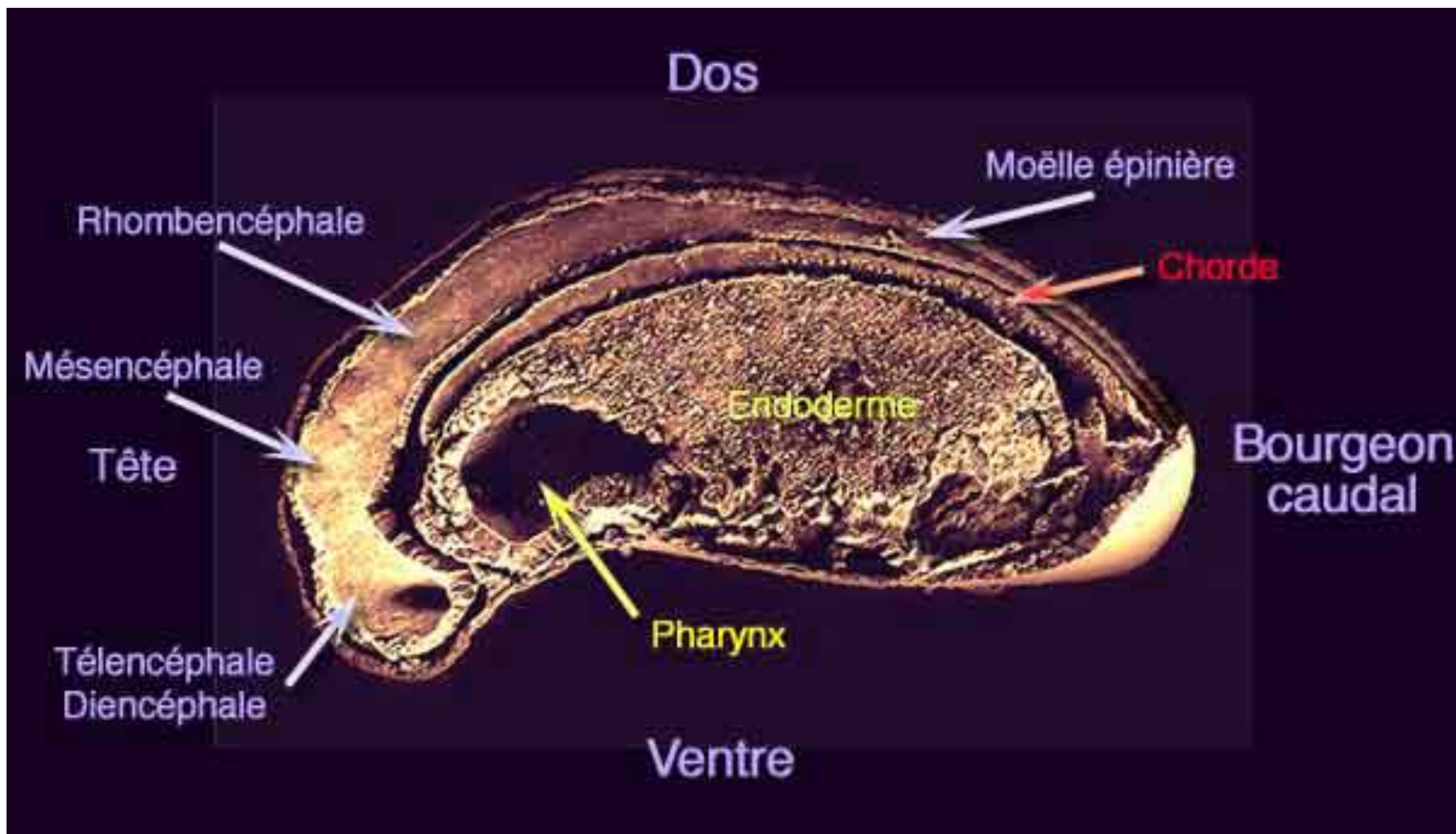


Nageoire bien développée → L'embryon se déplace grâce aux contractions musculaires spontanées + mouvements ciliaires de son épiderme. La bouche est en cours d'ouverture.

À la fin de l'organogenèse, plan d'organisation de l'embryon achevé → embryon prêt pour mener une vie libre dans le milieu aquatique. Résorption des derniers grains de vitellus au niveau des cellules intestinales. TD fonctionnel.

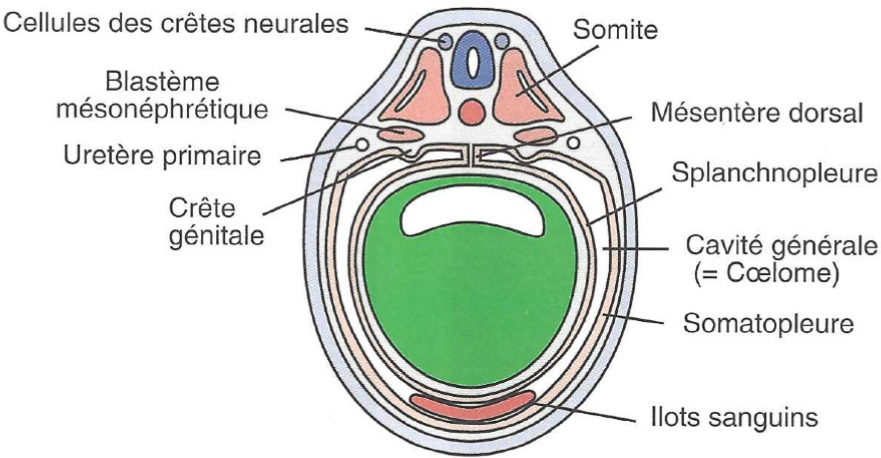
Ouverture de la bouche = dernier évènement qui termine la vie embryonnaire.

Son percement marquera le moment de la première prise de nourriture. L'embryon devient un têtard (larve).

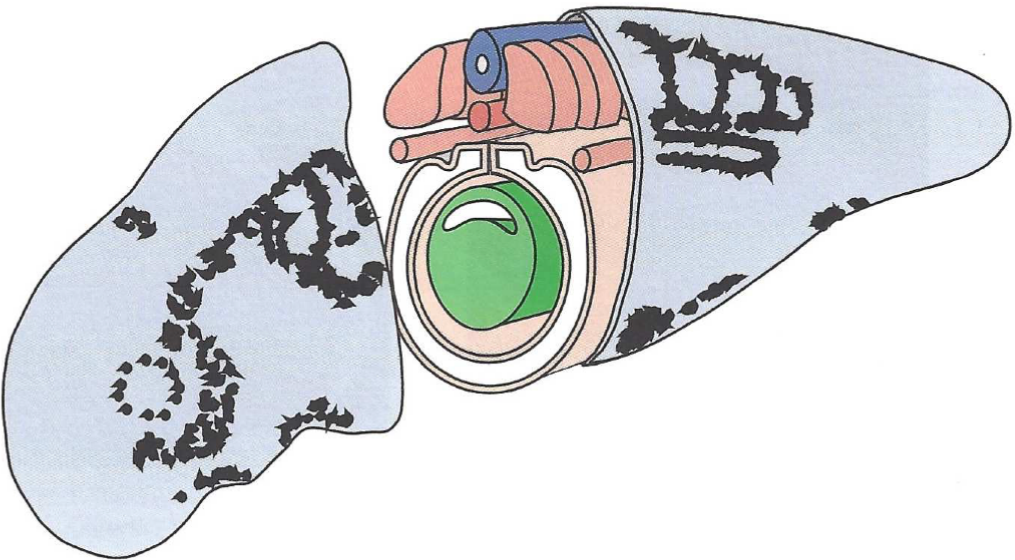


DE 23b : Développement du mésoderme et de l'endoderme au stade bourgeon caudal D'après Introd. à la biol. du dev., Darribère, 2002.

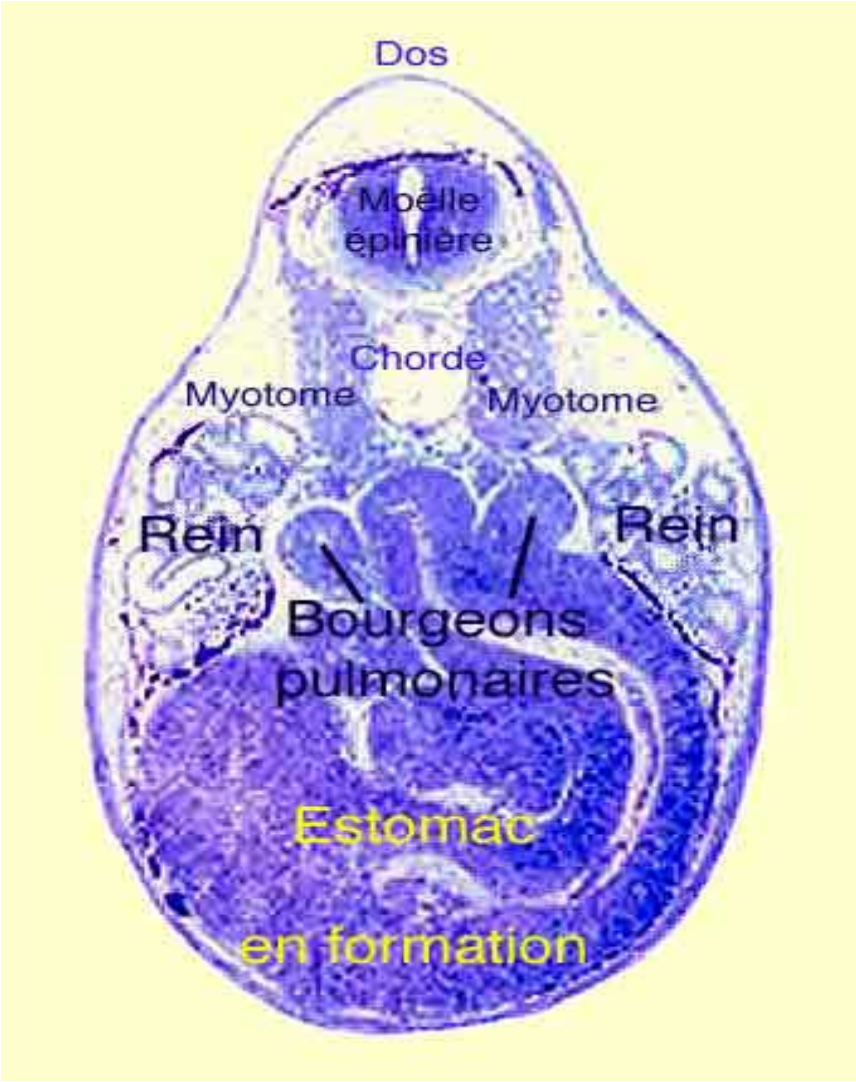
b) Coupe transversale selon AB



c) Métamérisisation somitique



coupe transversale du stade bourgeon caudal



IV- L'ORGANOGENESE : MISE EN PLACE DES TISSUS, DES ORGANES ET ACHEVEMENT DU PLAN D'ORGANISATION

IV.1. Isolement d'un tube neural dans la région dorsale : la neurulation

IV.2. Le stade bourgeon caudal et l'achèvement du plan d'organisation d'un vertébré

IV.2.1. Les ébauches d'organes

IV.2.2. Les tissus et organes issus des feuilletts embryonnaires

IV.2.3. Les cellules de la crête neurale

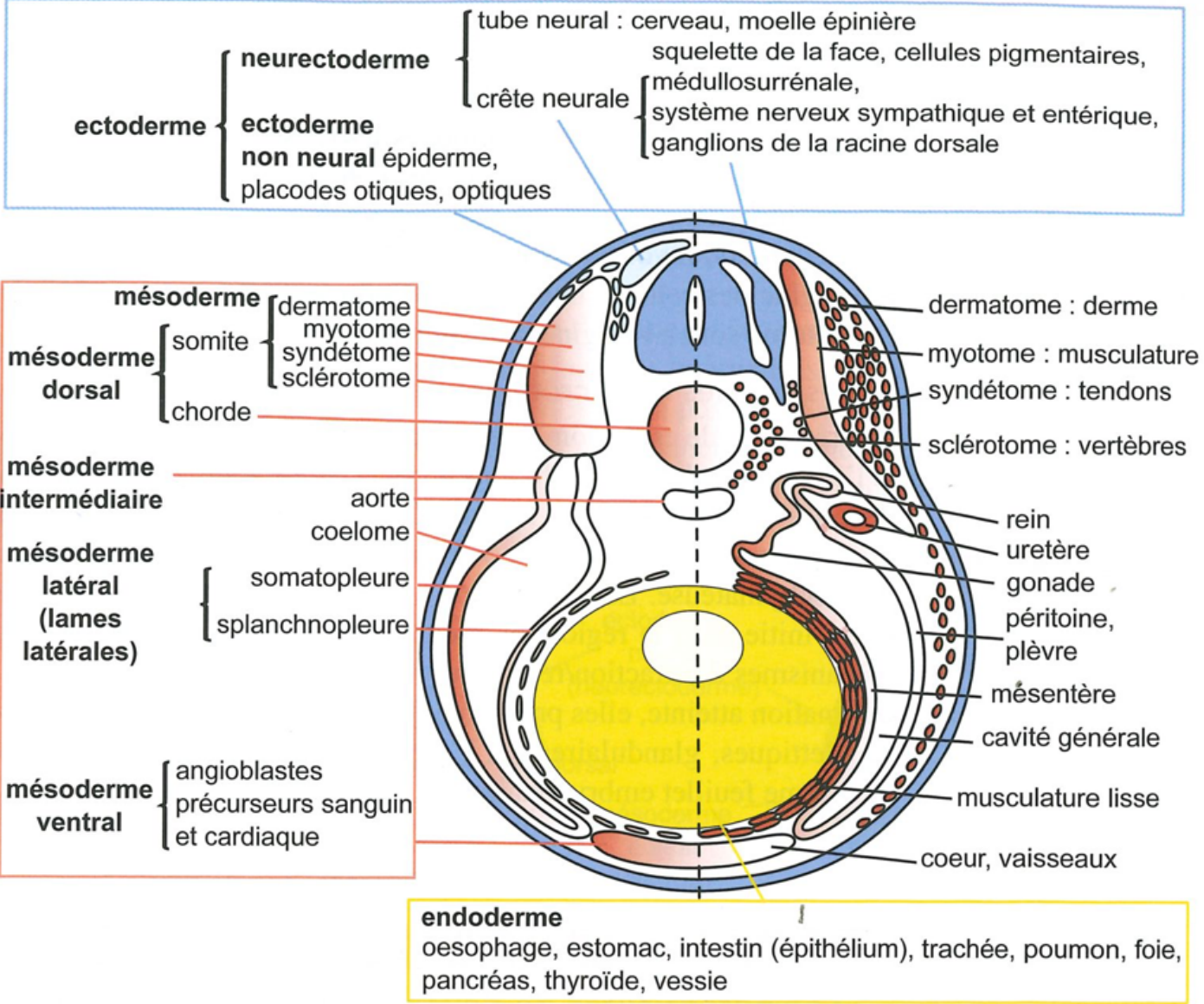
Évolutions synchrones et contrôlées dans l'espace et dans le temps et correspondance entre la position des feuilletts et les organes qu'ils engendrent.

Ectoderme et **Endoderme**, en contact avec le milieu extérieur, sont à l'origine d'organes réalisant des échanges d'informations, de substances, de gaz respiratoires avec celui-ci.

Mésoderme, feuillet intermédiaire, est entre autres à l'origine de l'appareil circulatoire qui mobilise le milieu intérieur. Il s'individualise en cinq domaines : axial (la chorde), paraxial (les somites), intermédiaire (les pièces intermédiaires), latéral (les lames latérales) et ventral.

Cette succession anatomique D-V caractérise les vertébrés, phylum des chordés. **Disposition relative des dérivés du mésoderme révélatrice de la structure des vertébrés** : dérivé le plus dorsal = chorde et dérivé le plus ventral = îlots sanguins. Entre les deux, somites dorso-latéraux, pronéphros latéral et lames ventro-latérales.

DE 24 : Synthèse des principaux tissus et organes dérivés des feuillets embryonnaires chez les vertébrés.



Coupe transversale au niveau troncal.

À gauche du pointillé : feuillets à la fin de la neurulation.

À droite du pointillé: principaux dérivés des différents feuillets issus de l'organogenèse. MEC non figurée (présente dans les espaces inter-tissulaires et autour des organes).

À l'éclosion le têtard est très différent de ses géniteurs. Comme toutes les larves, il grandira puis subira une crise morphogénétique au cours de laquelle par des phénomènes de mort cellulaire, de différenciation et de transformations cellulaires, il acquerra un plan d'organisation terminal identique à celui de ses parents : il s'agit d'une **métamorphose**.

Les somites

Découpage antéro-postérieur du mésoderme paraxial → **somites**.

Métamérie: division de l'embryon en unités anatomiques semblables, les **métamères**, le long de l'axe AP. Une des caractéristiques du PO de l'embryon des vertébrés.

Contrôle spatio-temporel extrêmement précis par un ensemble de gènes.

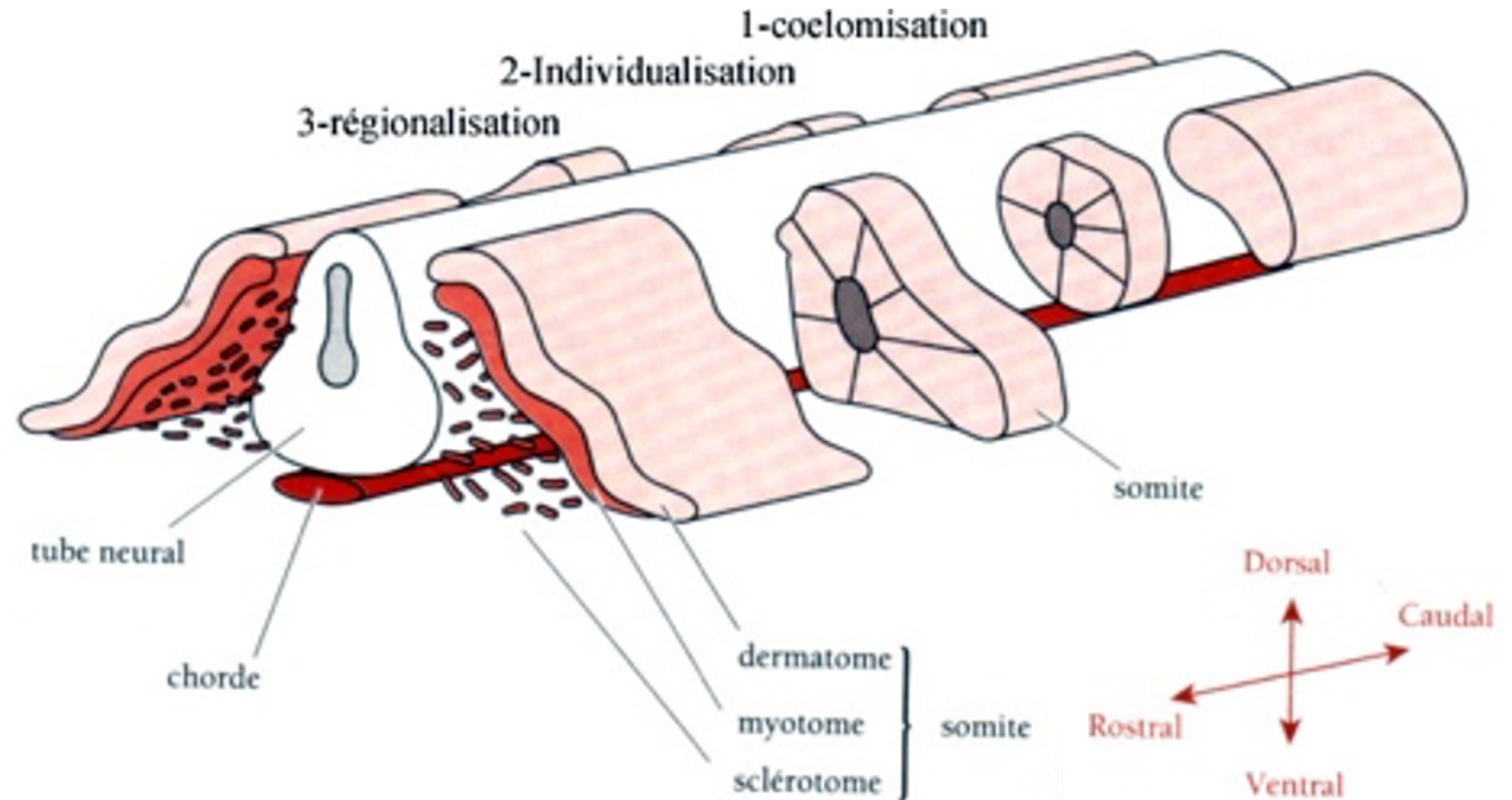
Les somites se différencient également selon l'axe dorso-ventral :

Éléments somitiques les plus proches de la chorde = **sclérotome** → **squelette vertébral et des côtes**.

Partie la plus proche de l'épiderme = **dermatome** dont les cellules viennent s'appliquer contre l'épiderme et constituent le **derme**.

Cellules du **myotome** évoluent en **myoblastes** dont la fusion est à l'origine des **cellules musculaires**.

Entre myotome et sclérotome, les cellules du **syndétome** sont à l'origine des **tendons**.



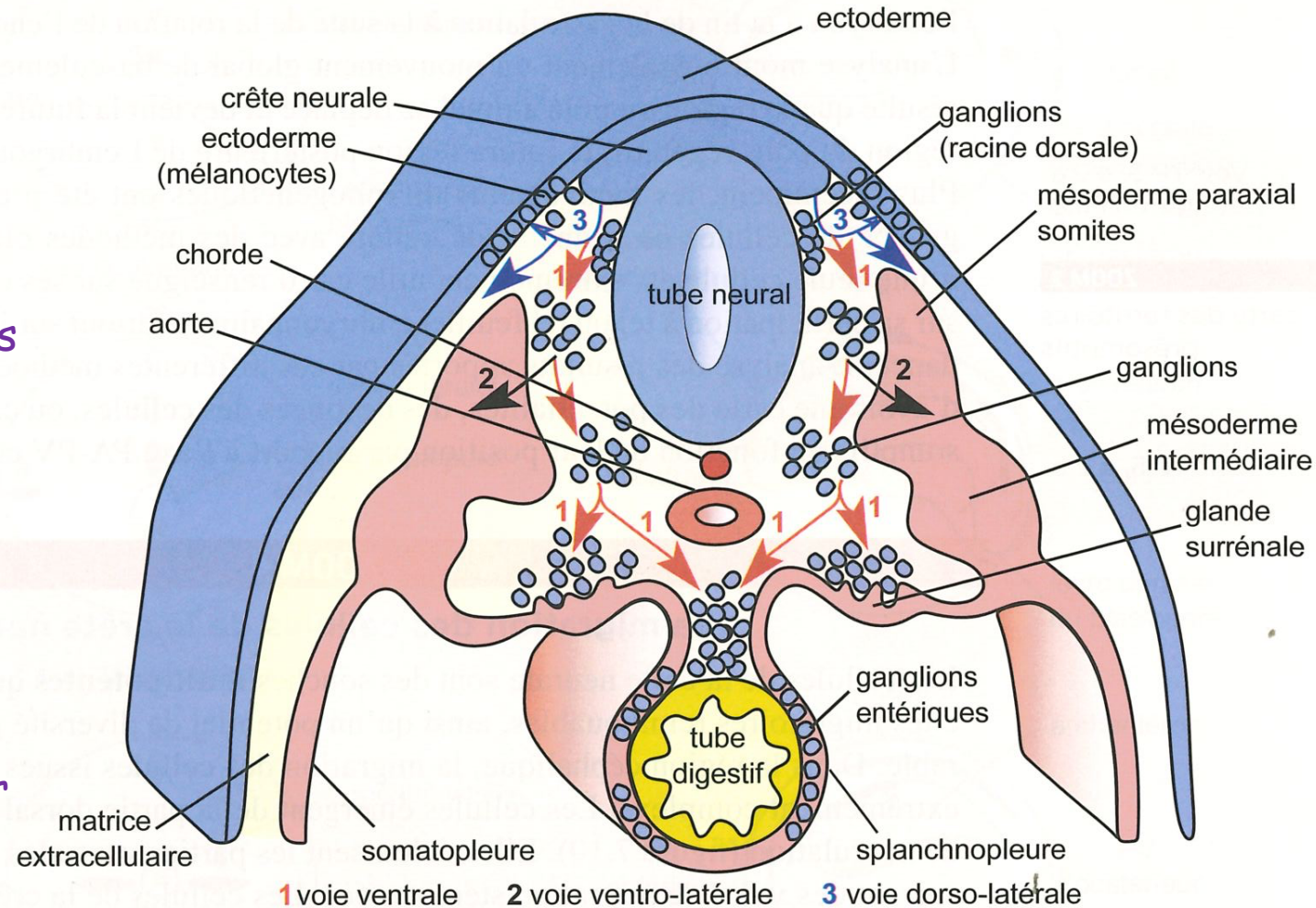
La crête neurale contient une population de cellules multipotentes, capacités migratoires remarquables, ainsi qu'un potentiel de diversité phénotypique considérable.

Détachement de cellules et migration dans la MEC tout en proliférant de la région dorsale vers la région ventrale de l'embryon. Migration de la région antérieure → région caudale : c'est la transition épithélio-mésenchymateuse.

Des mécanismes de chimiotactisme guident les déplacements des cellules selon des voies de migration stéréotypées.

Arrivées à destination, prolifération pour donner des dérivés très divers : nerveux, musculaires, squelettiques, glandulaires.

Pour certains auteurs, crête neurale = 4^{ème} feuillet embryonnaire.



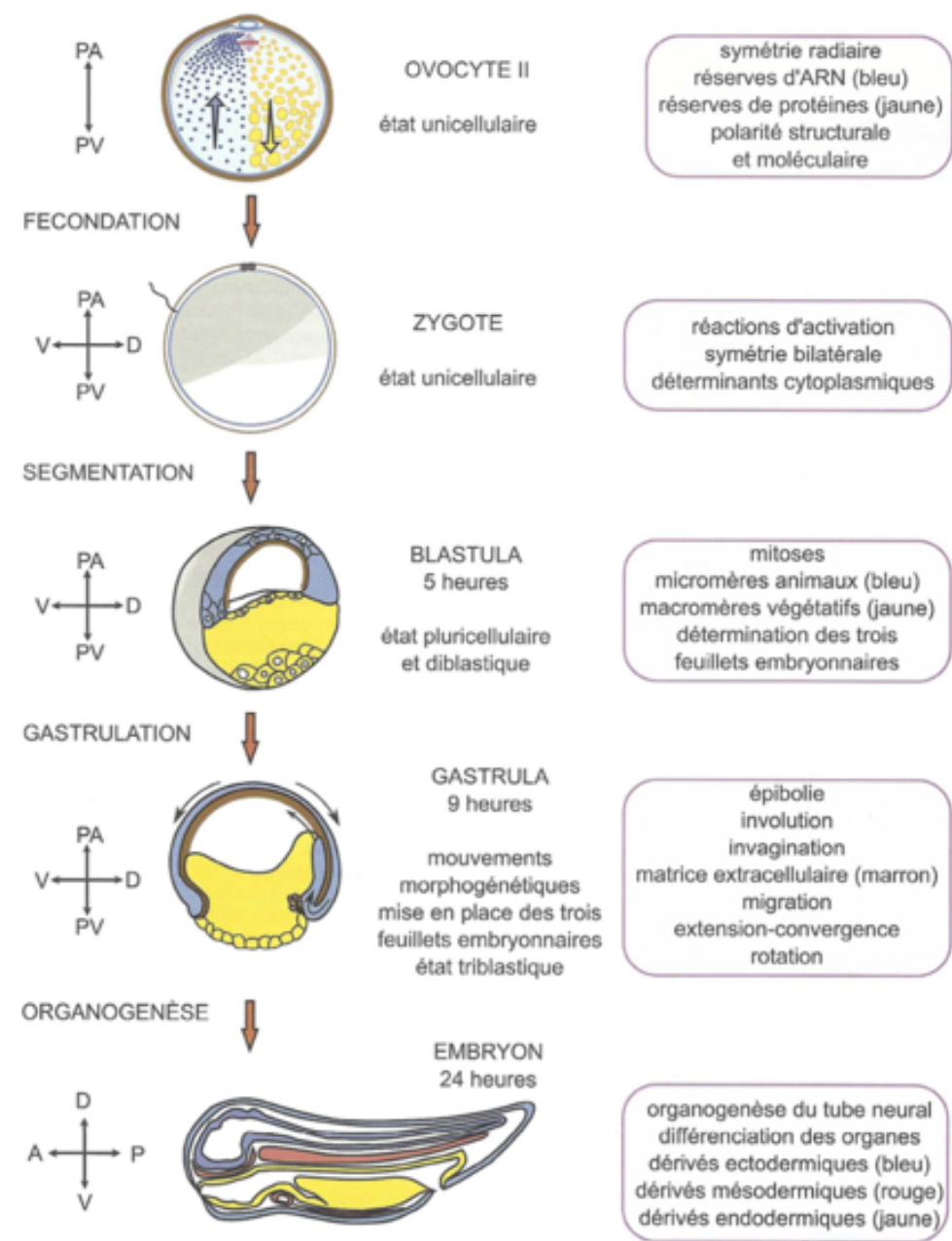
Les voies de migration des cellules de la crête neurale troncale. Quelques dérivés des cellules des crêtes neurales sont figurés, ganglions de la racine dorsale, nerfs rachidiens, ganglions entériques.

Feuillet		Structures pendant l'organogenèse	Structures dans le plan d'organisation adulte
Ectoderme	Ectoderme neural = Neuroderme	Vésicules céphaliques (tube neural antérieur)	Encéphale
		Tube neural postérieur	Moelle épinière
		Crêtes neurales	Ganglions et nerfs du système nerveux autonome, ganglions et nerfs rachidiens, mélanocytes etc
	Ectoderme épidermique = Épiderme		Épiderme structures sensorielles (ex. : Cristallin)
Mésoderme	Chorde	Chorde	<i>(La chorde disparaît lors de la métamorphose de la larve)</i>
	Somites	Sclérotome	Squelette axial
		Myotome	Muscles striés axiaux
		Dermatome	Derme
	Pièces intermédiaires	Blastème rénal (formant le pronéphros) Ébauche des gonades	Reins (mésonéphros) gonades
	Lames latérales	Splanchnopleure	Muscles lisses
			Myocarde, endocarde
			Endothélium des vaisseaux sanguins
			Cellules sanguines
		Somatopleure	Péricarde
			Squelette des membres
			Muscles des membres
Endoderme			Épithélium du tube digestif
			Foie, pancréas
			Épithélium pulmonaire
			Thyroïde

DE 25 : FIGURE DE SYNTHÈSE : Représentation schématique des différentes étapes du développement embryonnaire et mise en place du plan d'organisation

Du zygote au bourgeon caudal, le développement embryonnaire se déroule suivant plusieurs étapes continues contrôlées dans l'espace et dans le temps : mise en place du plan d'organisation dorso-ventral et antéro-postérieur caractéristique des vertébrés. A: antérieur; D: dorsal; P: postérieur; PA: pôle animal ; PV: pôle végétatif; V: ventral.

D'après PEYCRU et al. (2013).



BILAN

Organogenèse = étape de différenciation des appareils, organes, tissus et cellules.

Démarre après la gastrulation, c'est à dire lorsque les positionnements des feuillets le long des axes D-V et A-P sont acquis. → organisme animal Deutérostomien, Chordé, à squelette osseux métamérisé, donc possédant les caractères propres des Vertébrés.

Débute par la mise en place du tube neural, futur système nerveux = neurulation.

S'accompagne de l'achèvement du positionnement des trois feuillets embryonnaires et d'un changement global de la forme de l'embryon : allongement selon l'axe A-P et aplatissement selon l'axe D-V.

S'accompagne aussi des étapes de différenciation des trois feuillets embryonnaires → différents tissus et organes, finement contrôlée par des signalisations paracrines dont les cibles sont l'activation de l'expression des gènes du développement.

DE = succession d'étapes au cours desquelles l'œuf, cellule unique et totipotente, se multiplie (mitoses) et s'organise pour donner un organisme formé de deux types cellulaires qui constitue la blastula chez les amphibiens. À partir de ce stade, des mouvements morphogénétiques coordonnés dans l'espace et dans le temps génèrent un embryon à trois feuillets (triblastique), la gastrula.

Mouvements sous-tendus par des modifications du cytosquelette, des modifications d'adhérence intercellulaire, des processus d'intercalation et de migration cellulaire.

Des protéines et des ARNm, stockés au cours de l'ovogenèse, puis zygotiques organisent la mise en place des axes du futur organisme, axe A-P, axe D-V. Au stade gastrula, les trois feuillets embryonnaires caractéristiques des vertébrés sont positionnés de façon concentrique. L'ectoderme est à l'extérieur, le mésoderme en position moyenne et l'endoderme en profondeur de l'embryon. Vient ensuite l'organogenèse qui est initiée par l'isolement d'un tube dans la région dorsale de l'embryon, le tube neural, à l'origine du système nerveux central et périphérique : c'est la neurulation.

Durant l'organogenèse, les différents feuilletts se réorganisent, s'agencent et se différencient pour élaborer les ébauches des tissus et des organes.

Ces ébauches conduisent alors aux organes définitifs à la suite d'étapes de différenciation contrôlées dans l'espace et dans le temps. Finalement, le plan d'organisation définitif caractéristique de l'espèce est établi à la fin de la neurulation. Dans ses grands traits, la succession des étapes du développement embryonnaire est commune à tous les vertébrés.

La succession des différentes étapes du développement embryonnaire des Vertébrés est commune et aboutit à un stade identique au cours de l'organogenèse

Chez la plupart des amphibiens, le développement embryonnaire aboutit à un organisme capable de mener une vie libre mais dont le plan d'organisation et le mode de vie sont différents de ceux de ses géniteurs ; larve aquatique ou têtard.