

Aile de drosophile, système modèle de développement

La formation de l'aile de drosophile est un excellent modèle pour étudier les mécanismes fondamentaux du développement impliqués dans la mise en place et la formation des organes. Les mécanismes moléculaires ainsi que les réseaux géniques impliqués dans la morphogenèse de cet organe sont réutilisés à la fois chez la drosophile, pour la formation d'autres organes, et chez les vertébrés. Ainsi, les connaissances acquises à partir de ce système modèle pourront donc servir à mieux comprendre le développement et la formation d'autres organes et d'autres tissus chez les insectes et les vertébrés.

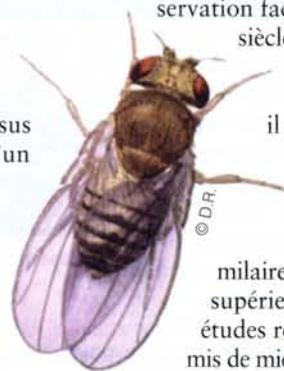
Michèle Crozatier et Bruno Glise*

Chaque animal ou plante se développe à partir d'une cellule unique : l'œuf fertilisé. Au cours du développement, cette cellule unique se divise afin de générer une multitude de cellules différentes qui s'organisent de façon ordonnée et précise pour conduire à la formation d'un organisme adulte. Toute l'information nécessaire à la construction de cet organisme est contenue dans son génome. Cependant, bien que l'information génétique de chaque cellule soit identique, les différents types cellulaires correspondent à l'expression de différents sous-ensembles de gènes. Cette expression sélective sous-tend les quatre processus essentiels mis en jeu dans la formation d'un organisme complexe :

- 1) la prolifération cellulaire qui permet de générer un grand nombre de cellules à partir d'une cellule unique;
- 2) la spécialisation des cellules, conduisant à la formation de cellules ayant des caractéristiques différentes;
- 3) des interactions cellulaires permettant à chaque cellule de « communiquer » avec ses voisines;
- 4) les mouvements cellulaires, changement de forme, migration et intercalation, à la base de la morphogenèse des tissus et des organes. Au cours du développement ces divers processus sont régulés de manière coordonnée. Les progrès récents dans la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués doivent beaucoup à l'utilisation d'organismes modèles.

Modèle d'étude : la drosophile

La mouche du vinaigre ou drosophile (*Drosophila melanogaster*) est l'un des organismes modèles préférés pour aborder les questions du développement et de l'acquisition des formes (ontogenèse et morphogenèse) (figure 1A). Parmi les raisons de ce choix, il faut citer la facilité d'élevage, un court temps de génération, une observation facile de la morphologie et plus d'un



siècle d'études génétiques. De plus, son génome a été complètement séquencé. De façon très surprenante, il s'avère que la plupart des gènes et des mécanismes moléculaires contrôlant la mise en place du plan du corps et la formation des organes et des tissus sont très similaires entre la drosophile et les vertébrés supérieurs, y compris l'homme. Ainsi, les études réalisées chez la drosophile ont permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires de base mis en jeu au cours de notre propre développement.

L'aile de drosophile est un modèle classique d'étude des mécanismes de contrôle de la taille, de la forme et de l'organisation spatiale d'un tissu. En effet, c'est un appendice relativement simple qui présente un plan d'organisation strictement identique d'un adulte à l'autre et qui est spécifique de l'espèce (figure 1B). L'aile est constituée de l'alternance de deux types cellulaires

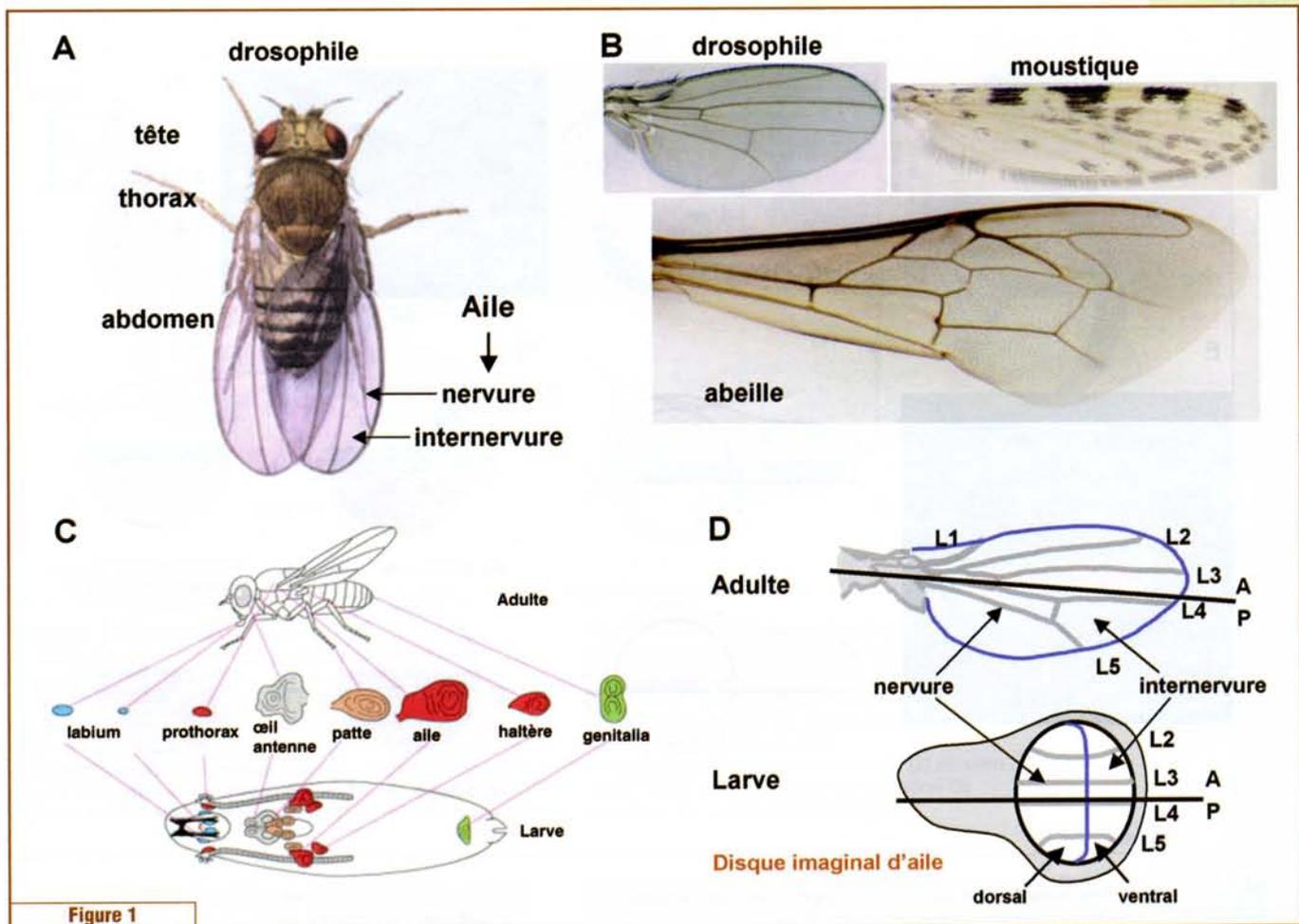


Figure 1

Drosophila melanogaster.

A) Vue dorsale d'une mouche adulte.

B) Ailes de diptère (*Drosophila melanogaster*, drosophile et *Anopheles gambiae*, moustique) et d'hyménoptère (*Apis mellifera*, abeille). La distance phylogénétique entre la drosophile et le moustique et l'abeille est respectivement de 250 et 300 millions d'années.

C) Représentation schématique des disques imaginaux de la larve de drosophile et les structures adultes qui en dérivent.

D) Représentation schématique d'une aile adulte et d'un disque imaginal d'aile. Les cinq nervures longitudinales (L1 à L5) sont indiquées ainsi que les faces dorsale et ventrale séparées par la marge de l'aile indiquée par un trait bleu. Les parties grisées et blanche du disque imaginal d'aile donneront respectivement le thorax et l'aile de l'adulte. La frontière A/P est indiquée par un trait noir.

«Disques imaginaux»

La plupart des structures externes de la drosophile adulte (*imago*) sont formées à partir de petits groupes de cellules appelés « disques imaginaux » spécifiés très tôt au cours de l'embryogenèse (figure 1C). Au cours de la métamorphose, ces disques imaginaux donneront les structures de l'adulte. Chaque disque imaginal est composé de deux populations cellulaires : les cellules antérieures et postérieures qui définissent les deux compartiments appelés compartiment antérieur (A) et postérieur (P) (figure 1D). Les cellules de ces deux compartiments ne peuvent pas se mélanger et sont caractérisées par l'expression de nombreux gènes différents. Dès la fin des stades larvaires, le disque imaginal d'aile est un épithélium monocouche qui va donner naissance à deux structures de l'adulte : la partie dorsale du thorax (partie grisée sur la figure 1D) et l'aile proprement dite (en blanc sur la figure 1D).

Les domaines préfigurant les nervures et les inter-nervures sont définis dès le stade larvaire au sein du disque imaginal d'aile (figure 1D). À ce stade les futures nervures peuvent être visualisées par l'expression du gène *rhomboid* (*rho*) (figure 2A) qui code pour une protéase membranaire qui permet l'activation de la voie de signalisation EGF (*pour drosophila Epidermal Growth Factor*) requise pour engager les cellules dans un destin de cellules de nervure. En revanche, l'expression du facteur de transcription D-SRF (*Drosophila Serum Response Factor*) engage les cellules vers une différenciation de cellules d'inter-nervure (figure 2B). Ainsi, deux programmes géniques distincts sont déjà mis en place à ce stade et permettent d'établir l'alternance de régions inter-nervures et nervures (1).

distincts morphologiquement : les cellules de nervures de petite taille et pigmentées, et les cellules d'inter-nervures de grande taille et non pigmentées (figures 1A et B). Cinq nervures longitudinales (L1 à L5) constituent des canaux qui permettent le passage des axones des neurones, de l'hémolymphe (système circulatoire) et de l'oxygène (système respiratoire). De plus, nervures confèrent à l'aile sa rigidité et sa capacité déformation lors du vol. L'aile de la drosophile est composée de deux feuillets épithéliaux (feuille dorsal et ventral) qui adhèrent l'un à l'autre au niveau des d'inter-nervures (figure 1D). L'organisation des nervures, probablement en relation avec l'adaptation aux conditions de vol est un critère souvent utilisé pour classer les espèces d'insectes. Un point clé restant à élucider est la compréhension des mécanismes moléculaires mis en jeu pour établir cette organisation très stéréotypée.

(1) De Celis J. (2003) *BioEssay* 25, 443-51

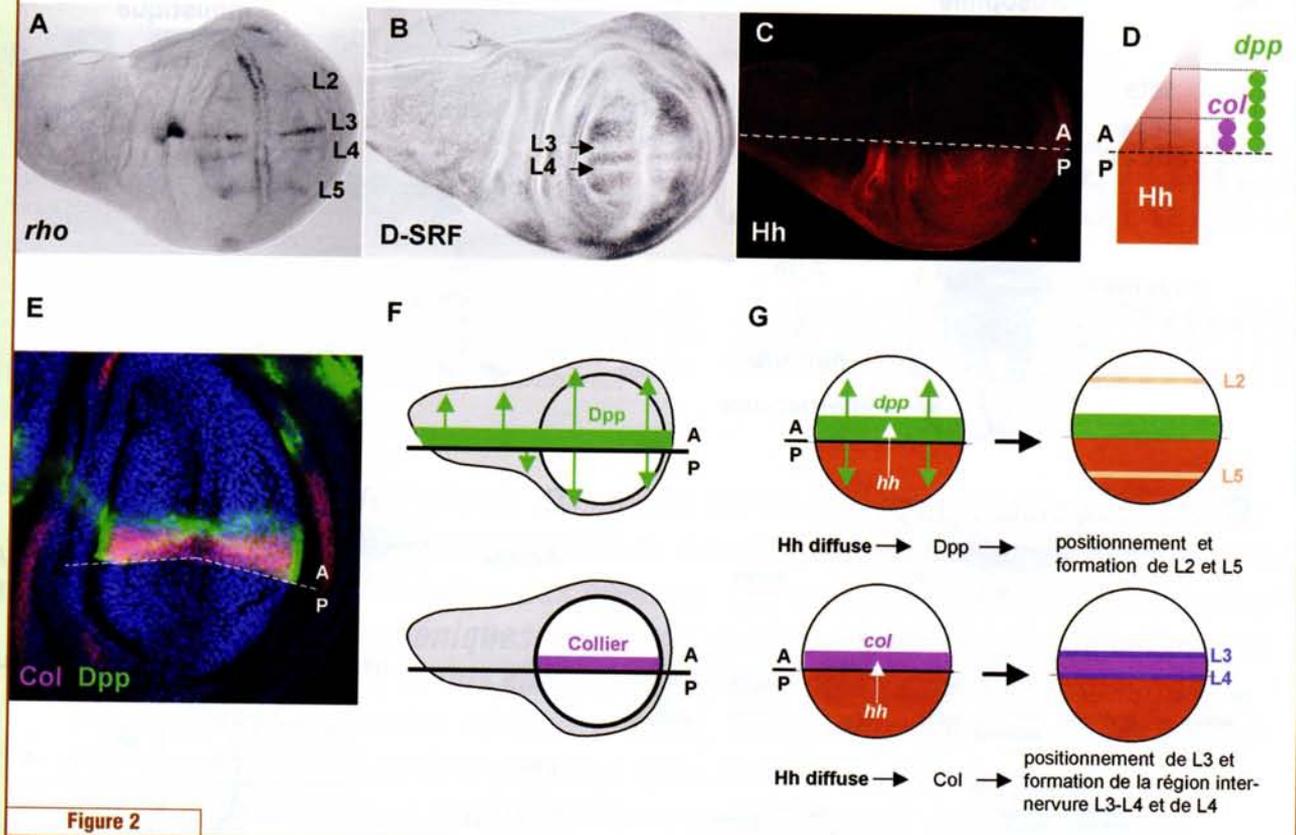


Figure 2

Les voies de signalisation impliquées dans l'organisation de l'aile de drosophile selon l'axe A/P.

(A-C et E) disques imaginaux d'aile.
(D, F-G) Représentations schématiques de la signalisation Hh (D) et de l'expression de *dpp* et Col dans le disque imaginal d'aile (F et G).
A) hybridation *in situ* réalisée avec *rho* qui permet de visualiser les futures nervures numérotées de L2 à L5.
B) Immunocoloration réalisée avec un anticorps dirigé contre la protéine D-SRF qui marque les futures régions inter-nervures. Les nervures L3 et L4 sont indiquées par des flèches.
C) Immunocoloration avec un anticorps dirigé contre la protéine Hh. Hh est exprimé dans le compartiment postérieur. La frontière antéro/postérieure (A/P) est indiquée par un trait blanc.
D) Représentation schématique du gradient de la protéine Hh dans le compartiment antérieur et activation des deux

gènes cibles : *col* (rouge) et *dpp* (vert). La frontière A/P est indiquée par un trait noir.

E) Grossissement de la partie centrale d'un disque imaginal d'aile. Une double immunocoloration a été réalisée afin de visualiser les protéines Dpp (vert) et Col (rouge). Le domaine d'expression de Col est inclus dans celui de Dpp.

F et G) Représentation schématique de l'expression de Dpp (vert) et de Col (rouge).

En G) seule la partie centrale du disque est indiquée. La protéine Dpp (vert) va diffuser dans tout le disque (flèches vertes) et activer l'expression de différents gènes cibles contrôlant la position et la formation des nervures les plus distales L2 et L5. Col (rouge) contrôle la formation des nervures L3 et L4 et la région inter-nervure L3-L4. La frontière A/P est indiquée par une barre noire. Tous les disques sont orientés avec la région antérieure en haut et la région dorsale à gauche.

Territoires de nervure et inter-nervure

Deux voies de signalisation : les voies Hedgehog (Hh) et Decapentaplegic (Dpp, une protéine de la famille BMP pour *Bone Morphogenetic Protein*) jouent un rôle crucial dans l'organisation du disque d'aile selon l'axe antérieur/postérieur (A/P) et définissent la position des nervures (2-4). Hh et Dpp codent pour des protéines diffusibles de type morphogène (5). Elles sont donc synthétisées de façon localisée. La concentration de ces protéines sera donc élevée au voisinage de la source et diminuera graduellement lorsque la distance augmentera. Il s'établira ainsi un gradient de concentration décroissant à partir de la source (figure 2D). Les cellules situées à différentes distances de la source seront donc exposées à des concentrations différentes de morphogène et en conséquence exprimeront différents gènes cibles. Un gradient de morphogène peut donc contrôler l'organisation d'une importante surface au

sein d'un tissu. Au cours du développement, la mise en place d'une information de position passe très souvent par l'utilisation de protéines de type morphogène.

Dans le disque imaginal d'aile, Hh est synthétisé dans le compartiment postérieur, diffuse dans le compartiment antérieur ou il établit un gradient décroissant de concentration depuis la frontière A/P (figures 2C et D). Les cellules du compartiment antérieur peuvent interpréter ce signal en fonction de la dose reçue. Les cellules recevant de fortes doses de Hh, c'est-à-dire celles qui sont situées proches de sa source, activent l'expression du facteur de transcription Collier (Col) (6). Les cellules qui reçoivent des doses modérées de Hh activent l'expression de *dpp*. Cette relation de dose dépendance permet de transformer un gradient continu de concentration en secteurs, visualisés par l'expression de différents gènes ou combinatoire de gènes (ici des cellules qui expriment uniquement Dpp ou qui co-expriment Dpp et Col) (figure 2D). Col joue un rôle clé dans

(2) Basler K., Struhl G. (1994) *Nature* 368, 208-14
 (3) Strigini M., Cohen S. (1997) *Development* 124, 4697-705
 (4) Lecuit T., Cohen S. (1998) *Development* 125, 4901-7
 (5) Lawrence P., Struhl G. (1996) *Cell* 85, 951-61
 (6) Vervoort M. et al. (1999) *Current Biology* 9, 632-9

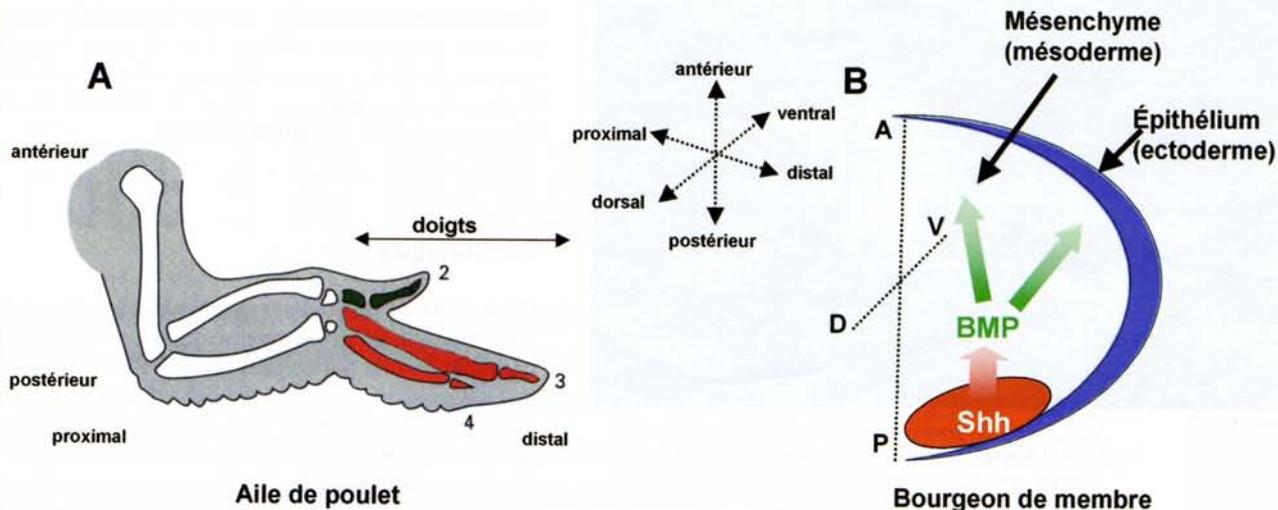


Figure 3

Formation du membre de vertébré.

A) Représentation schématique d'une aile de poulet. Chaque doigt (2 à 4) a une identité propre.

B) Représentation schématique d'un bourgeon de membre vertébré. Les deux voies de signalisation *Shh* et *BMP* qui jouent un rôle clé dans l'organisation de cet organe selon l'axe A/P sont indiquées respectivement en rouge et vert. *shh* est exprimé dans un sous-groupe de cellules postérieures. La protéine *Shh* va diffuser à partir

de son site de synthèse selon un gradient de concentration (flèche rouge) et va activer l'expression de *BMP*. La protéine *BMP* va diffuser selon un gradient de concentration indiqué par des flèches vertes. En réponse à de fortes doses de *Shh* les doigts les plus postérieurs (3 et 4) sont spécifiés tandis que la formation du doigt le plus antérieur (2) requiert la signalisation *BMP*. Les trois axes d'orientation du bourgeon de membre sont indiqués.

l'organisation de la partie centrale du disque d'aile (comprise entre les nervures L3 et L4) en contrôlant à la fois : (a) la distance entre les nervures L3 et L4 en activant le gène *D-SRF*, (b) la position de la nervure L3 qui correspond à la limite antérieure du domaine d'expression de *Col*, (c) et la formation de la nervure L4 (7) (figure 2 E, F et G). Outre l'organisation de la partie centrale de l'aile par un contrôle à « courte distance » via l'expression de *Col*, *Hh* est nécessaire à la prolifération et à l'organisation des régions plus distales du disque d'aile (antérieur à L3 et postérieur à L4). Cette action de *Hh* fait intervenir un système relais médié par l'activation de la signalisation *Dpp* qui va avoir une action à « longue distance ». En réponse à la signalisation *Hh* le gène *Dpp* est exprimé sur environ dix rangées de cellules (figure 2 E, F et K). La protéine *Dpp* va diffuser sur toute la largeur du disque d'aile et activer l'expression de différents gènes cibles en fonction de la dose reçue. Ainsi, d'autres secteurs visualisés par l'expression en bandes des différents gènes cibles, vont être spécifiés à la surface du disque et ainsi permettre de définir la position des nervures les plus distales L2 et L5 (figure 2G).

Formation des membres des vertébrés

Les membres des vertébrés sont très différents de ceux des insectes. L'aile des insectes, comme nous venons de le décrire, est composée principalement de deux feuillettes épithéliales et de deux types cellulaires distincts. Les membres de vertébrés sont constitués d'un ensemble complexe de muscles, d'os, de tissus conjonctifs formant une structure recouverte d'épiderme. Les données résultant de recherches



Bien que les ailes des vertébrés soient très différentes de celles des insectes, on observe d'importantes similarités quant à leur formation.

basées sur l'évolution suggèrent que l'ancêtre commun entre les insectes et les vertébrés ne possédait ni membre ni appendice et que ces différents organes se sont formés de façon indépendante au cours de l'évolution. Grâce à des données récentes résultant de l'étude des mécanismes moléculaires qui contrôlent la formation des membres de vertébrés d'importantes similarités ont pu toutefois être mises en évidence entre les insectes et les mammifères. Ainsi, la plupart des molécules mentionnées lors de la mise en place de l'aile de drosophile selon l'axe A/P sont également exprimées dans le bourgeon de membre vertébré. Dans l'embryon de poulet, la patte et l'aile apparaissent sous forme de petits bourgeons, ressemblant à des languettes qui font saillie des flancs de l'embryon. Ces bourgeons de membre sont composés d'un

(7) Crozatier M. et al. (2002) *Development* 129, 4261-9

(8) Niswander L. (2003) *Nature genetics* 4, 133-43



© D.F.

Mouche du vinaigre portant un transgène codant pour la GFP (Green Fluorescent Protein) qui lui confère une couleur verte. Cette couleur verte permet de visualiser la présence du transgène inséré dans son génome.

ensemble de cellules mésenchymateuses entourées d'un épithélium (8) (figure 3). Les gènes homologues à *hh* et *dpp* appelés respectivement *shh* (*sonic hedgehog*) et *BMP* (*Bone morphogenic protein*), sont exprimés et requis pour organiser le membre selon l'axe A/P. La signalisation *shh* est nécessaire pour spécifier le nombre et l'identité des différents doigts. Comme chez la drosophile, *shh* est exprimé dans le compartiment postérieur du bourgeon de membre mais, contrairement à l'aile de drosophile, son expression est restreinte seulement à un sous-ensemble de cellules. La protéine Shh va diffuser à partir de son site de synthèse selon un gradient de concentration et va avoir à la fois une action à courte et à longue distance pour

spécifier l'identité de chaque doigt. En réponse à de forte concentration de *Shh* (courte distance) les doigts les plus postérieurs (doigts 3 et 4) sont formés. L'action de *Shh* à longue distance afin de spécifier le doigt le plus antérieur (doigt 2) nécessite un relais assuré par la signalisation BMP.

Conclusions

L'information de position est l'un des principes clés de la biologie du développement. Selon ce principe, le destin de chaque cellule est déterminé en fonction de sa position au sein d'un tissu ou d'un organe. Dans de très nombreux cas, cette information de position est conférée par un gradient de morphogène. Un des morphogènes le plus étudié est la protéine de la famille Hh. Ces protéines confèrent une information de position dans de nombreux tissus et organes à la fois chez les invertébrés et les vertébrés. Chez l'homme, elles sont impliquées dans de nombreuses maladies congénitales (telle que la pro-encéphalie) et divers cancers (tels que des carcinomes et des tumeurs neuro-ectodermes). Tandis qu'il y a trois membres de la famille Hh chez les vertébrés qui peuvent avoir des fonctions redondantes, un seul est présent chez la drosophile. L'analyse détaillée du mécanisme d'action des morphogènes réalisée chez la drosophile qui est un modèle simple, devrait permettre de mieux comprendre leurs rôles lors de la formation d'un organe sain. Par la suite, ces connaissances serviront à mieux appréhender leurs fonctions lors de pathologies telles que des tumeurs. ●

UNE RÉFÉRENCE DE L'ENTOMOLOGIE

Les Coléoptères Carabidés & Ténébrionidés



Écologie et biologie

Roger DAJOZ

536 pages • 16 x 24 • 2002
16 pages hors
texte en couleur • relié

Roger DAJOZ, agrégé de biologie et docteur ès sciences, est professeur au Muséum national d'histoire naturelle. Ses travaux sur les insectes forestiers l'ont mené dans le monde entier.

Auteur de nombreux articles et de plusieurs ouvrages, il est considéré comme l'un des plus grands spécialistes mondiaux d'entomologie forestière.

ISBN : 2-7430-0539-4

88 €

Éditions Tec & Doc

Du littoral marin jusqu'à plus de 5 000 mètres, des forêts tropicales aux déserts les plus arides, les Carabidés et les Ténébrionidés ont colonisé tous les milieux et constituent un élément important de la faune du sol. Leur biodiversité, leurs adaptations morphologiques et physiologiques ainsi que la biologie très variée de leurs dizaines de milliers d'espèces leur confèrent une place privilégiée pour l'étude de divers sujets de biologie générale et d'écologie.

Après une présentation rapide des méthodes d'étude et des grandes lignes de la classification actuelle, la première partie du livre traite de l'influence des facteurs abiotiques et biotiques, des mécanismes de dispersion de ces insectes et de la colonisa-

tion de nouveaux milieux, de leurs divers régimes alimentaires, de leur rôle dans le fonctionnement des écosystèmes, de leurs glandes défensives, et de leur reproduction et développement.

Dans la deuxième partie du livre, les peuplements de Carabidés et de Ténébrionidés des principaux milieux terrestres sont décrits ainsi que les particularités morphologiques et écophysiologiques des espèces les plus remarquables.

Cette synthèse, qui réunit pour la première fois les deux familles dominantes des Coléoptères du sol, s'appuie sur des recherches effectuées par l'auteur en Europe, en Afrique et en Amérique du Nord durant de nombreuses années, ainsi que sur une bibliographie riche de près de mille titres.

