

## **PREMIERE PARTIE: la biologie du développement de l'amphibien**

L'embryologie, ou biologie du développement, a pour objectif de décrire et comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les différentes étapes depuis la formation de la cellule œuf jusqu'à la naissance d'un individu. Nous nous intéresserons ici principalement au développement des embryons amphibien et humain.

Le développement commence avec la fusion des gamètes haploïdes, le spermatozoïde et l'ovocyte, qui forment un zygote ou cellule œuf diploïde. Le zygote se développe en un organisme complexe, constitué de plusieurs dizaines de milliards de cellules chez l'homme, permettant de réaliser l'ensemble des fonctions nécessaires à la vie.

La cellule œuf, capable de donner un organisme entier, est dite **totipotente**. Les cellules embryonnaires peuvent être totipotentes jusqu'au stade 2 cellules pour certaines espèces. Puis, au cours du développement, les cellules se spécialisent progressivement. Les cellules souches embryonnaires sont alors **pluripotentes**, c'est à dire qu'elles sont capables de se différencier en tous les types cellulaires de l'organisme, mais ne sont plus capables de donner un individu entier. Elles sont ensuite **multipotentes**, c'est à dire capables donner plusieurs types cellulaires mais d'une même origine embryonnaire (soit ectodermique, soit mésodermique ou endodermique). Les cellules souches **unipotentes** sont engagées dans un processus de différenciation qui ne leur permet plus de produire qu'un seul type cellulaire. Enfin les cellules acquièrent une identité spécifique avec une forme et une fonction précises. On les appelle alors des cellules **différenciées**.

### **I. Méthodes d'étude en biologie du développement**

#### **A) Première méthode d'étude en embryologie : l'observation**

##### **1) Dès l'antiquité, deux théories sont proposées pour expliquer le développement embryonnaire**

Deux théories sont proposées dès l'antiquité pour expliquer la formation d'un organisme. Aristote défend l'**épigenèse** selon laquelle l'édification d'un organisme adulte se fait par étapes, *de novo* à partir d'un état indifférencié, chaque étape étant conditionnée par la précédente et conditionnant celle qui suit. Hippocrate défend la théorie de la **préformation** selon laquelle tous les organes de l'adulte sont préformés en miniature dans l'œuf. Cette dernière théorie domine aux XVII et XVIIIème siècle, jusqu'à la théorie cellulaire appuyée par des outils modernes d'observation microscopique dès le XIXème siècle.

En 1928, Karl Ernst von Baer observe que les embryons de vertébrés présentent au cours de leur développement embryonnaire des structures comparables et un plan d'organisation primaire commun: le stade phylotypique. Ce stade suggère l'existence d'un ancêtre commun à tous les vertébrés. Au cours du développement, ces structures deviennent caractéristiques de l'ordre, de la famille et de l'espèce.

## I. Méthodes d'études en biologie du développement

### A) Première méthode d'étude en embryologie : l'observation

#### 1) Dès l'antiquité, deux théories sont proposées pour expliquer le développement embryonnaire

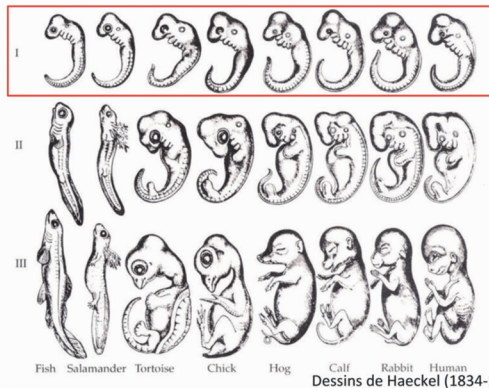
Hippocrate (460-377 avant J.-C.) Tout est **préformé** dans l'embryon, le développement est un simple accroissement de taille.

Aristote (384-322 avant J.-C.) Observations d'embryons d'oiseau, de requin: les organes **se forment progressivement**.

Deux hypothèses: la **préformation** ou l'**épigénèse** de l'embryon.

Kaspar Friedrich Wolff (1733-1794) Description des différents stades de développement chez le poulet: la forme apparaît progressivement au cours du développement.

Karl Ernst von Baer (1828) **Le stade phylotypique**: Stade du développement embryonnaire au cours duquel les embryons de vertébrés présentent des structures comparables, des plans d'organisation similaires.



**La théorie cellulaire (1838-1839):**

. Mathias Schleiden et Theodor Schwann: la **cellule** est l'unité de base du vivant; tout être vivant est constitué d'une ou plusieurs cellules.

. August Weissman (1840) La **fécondation** est l'union de deux cellules spécialisées appelées **germinales**, le spermatozoïde et l'ovule

. Rudolf Virchow (1855) Toute cellule provient d'une autre cellule par division.

. Wilhelm August Oscar Hertwig (1875) Fécondation chez l'oursin. Le noyau du zygote contient une contribution équivalente de chromosomes venant de chaque parent.

## I. Méthodes d'études en biologie du développement

### A) Première méthode d'étude en embryologie : l'observation

#### 2) Le cycle de développement des vertébrés

Depuis 1940, l'essor des techniques modernes de biologie cellulaire, moléculaire et de génétique (développées en I. B) et C)), a permis de définir le développement d'un organisme comme une séquence d'étapes qui reposent sur des activités cellulaires, tissulaires et génétiques coordonnées dans l'espace et le temps.

Ces étapes sont :

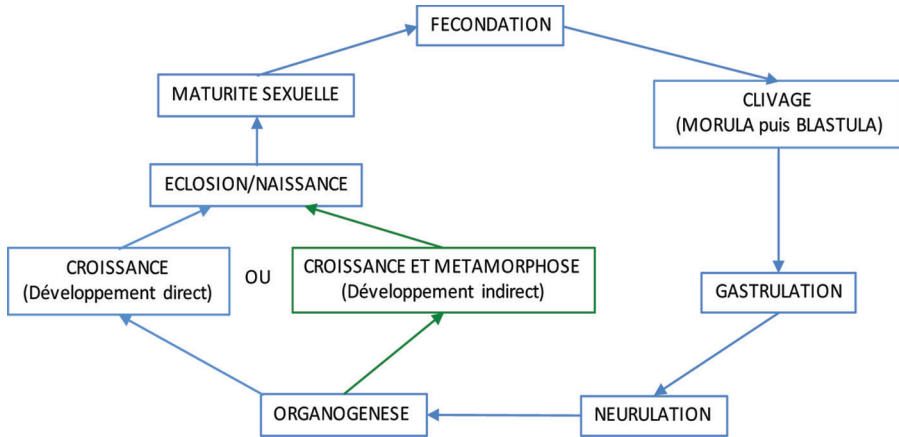
1. **La fécondation**, qui correspond à la formation du zygote par fusion d'un spermatozoïde et d'un ovocyte II. En effet, chez les amphibiens et la plupart des mammifères, l'ovocyte fécondable est bloqué en Métaphase II de méiose.
2. **Le clivage du zygote**, qui consiste en une succession de divisions cellulaires rapides (mitoses) permettant la formation d'une morula puis d'une blastula ou d'un blastocyste chez les mammifères. Les cellules de l'embryon sont alors appelés **blastomères**. Ils s'organisent autour d'une cavité: le blastocœle.
3. **La gastrulation**, au cours de laquelle se réalise la mise en place des trois feuilletts embryonnaires et des trois axes: l'axe antéro-postérieur, l'axe dorso-ventral et l'axe droite-gauche. Elle repose sur des mouvements cellulaires et tissulaires coordonnés dans l'espace et dans le temps.
4. **La neurulation**, concomitante de la gastrulation, permet l'achèvement de la mise en place du plan d'organisation primaire de l'embryon (trois feuilletts et trois axes) et la formation du tube neural dans la région dorsale de l'embryon.
5. **L'organogenèse** consiste en l'individualisation et la différenciation des tissus et des organes à partir des trois feuilletts. Elle permet l'acquisition de la forme propre à l'individu et de la coordination du fonctionnement des organes.
6. La croissance et l'acquisition d'une **maturité sexuelle**.

Le développement permet ainsi de passer d'une diversité de taille et de forme du zygote, à un stade où tous les embryons de vertébrés se ressemblent, le stade phylotypique, pour aboutir à nouveau à une diversité de forme et de taille chez l'adulte, caractéristique de chaque espèce.

# I. Méthodes d'études en biologie du développement

## A) Première méthode d'étude en embryologie : l'observation

### 2) Le cycle de développement des vertébrés



## I. Méthodes d'études en biologie du développement

### B) Le lignage cellulaire permet de suivre le devenir des descendants d'une cellule et les mouvements des cellules dans l'embryon

L'injection d'une molécule couplée à un fluorochrome au sein d'un blastomère permet de suivre en direct avec une loupe à fluorescence le devenir de la cellule et de ses descendantes au cours du développement.

Chez l'amphibien, cette technique a permis de confirmer et de préciser les résultats de travaux anciens ayant conduit à l'établissement de la **carte des territoires présomptifs**. En effet, l'injection d'une molécule couplée à un fluorochrome dans successivement chacun des blastomères au stade morula 32 cellules permet de suivre la descendance de chaque blastomère au fil du développement. Le regroupement de l'ensemble des résultats a permis l'établissement de la carte des destinées cellulaires en fonction des axes pôle animal-pôle végétatif et dorso-ventral: c'est la carte des territoires présomptifs. Cette carte permet donc de prédire le destin d'un blastomère en fonction de sa position dans l'embryon.

#### **Abréviations**

PA: Pôle Animal

PV: Pôle Végétatif

D: région Dorsale

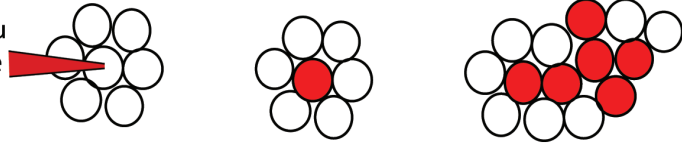
V: région Ventrale

# I. Méthodes d'études en biologie du développement

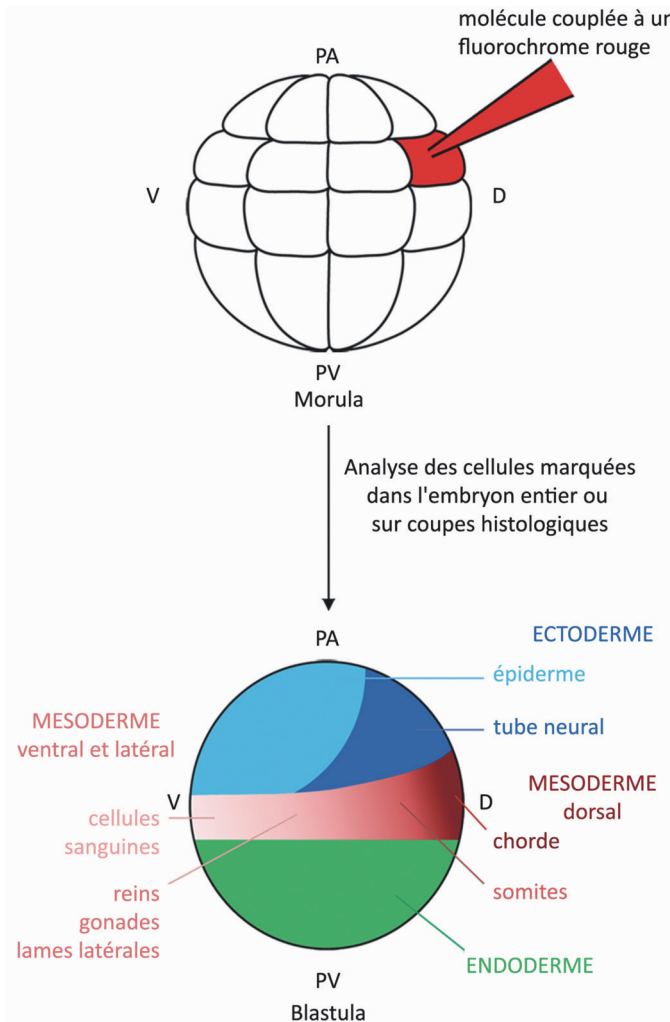
## B) Le lignage cellulaire permet de suivre le devenir des descendants d'une cellule et les mouvements des cellules dans l'embryon

- Méthode:

Injection d'un colorant vital ou d'une molécule couplée à un fluorochrome



- Etablissement de la carte des territoires présomptifs, exemple de l'amphibien:



## I. Méthodes d'études en biologie du développement

### C) Les greffes : exemples chez les amphibiens

Au cours du développement, chaque cellule se spécialise progressivement en étant tout d'abord **spécifiée**, puis **déterminée** et enfin **différenciée** en un type cellulaire spécialisé.

- La **spécification** est l'engagement d'une cellule dans une voie de différenciation.







Elle peut être testée expérimentalement en plaçant une cellule ou un groupe de cellules (explant) dans un milieu de culture neutre (voir **Première partie I. D**). Si la cellule se différencie dans ce milieu neutre, elle est spécifiée.

- La **détermination** est l'engagement irréversible d'une cellule dans une voie de différenciation. Pour savoir si une cellule est déterminée, on réalise des expériences de greffes hétérotopiques, *in vivo*. Le greffon est alors soumis à des signaux ectopiques de la part des cellules de l'embryon receveur. Si les cellules du greffon conservent leur identité, alors elles sont déterminées. Un changement d'identité des cellules du greffon suggère que leur nouveau destin a été induit par les cellules environnantes : c'est le phénomène d'**induction**.

- La **différenciation** est l'acquisition par les cellules de leurs fonctions spécifiques.

# I. Méthodes d'études en biologie du développement

## C) Les greffes : exemples chez les amphibiens

Type de greffe	Donneur	Receveur	Exemples d'analyse
<b>Homotopique</b> même lieu <b>Homochronique</b> même stade <b>Hétérotypique</b> différente espèce	Greffon  Embryon d'amphibien albinos, stade jeune gastrula en vue dorsale	 Embryon d'amphibien pigmenté, stade jeune gastrula en vue dorsale	- Lignage et analyse des destinées et des mouvements cellulaires et tissulaires - Différenciation
<b>Hétérotopique</b> Homochronique			- Détermination - Induction - Différenciation
<b>Hétérotopique</b> Hétérochronique		 Embryon d'amphibien albinos, stade neurula en vue dorsale	- Détermination - Induction - Différenciation