
 Jean-Antoine Lepesant

LE PARADIGME DE LA DROSOPHILE DANS L'ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT

Au cours de la dernière décennie, la montée en puissance du modèle drosophile a permis de réaliser une synthèse féconde des approches de l'embryologie, de la génétique et de la biologie cellulaire dans le contexte des bouleversements conceptuels et technologiques résultant de l'expansion continue de la biologie moléculaire des gènes eucaryotes.

Cette percée a eu un profond impact sur la biologie du développement que l'on peut relier directement à la convergence de deux lignes de recherche ayant attiré un nombre croissant d'équipes et conduit à la réalisation d'une somme considérable de travaux. La première a son origine dans une approche très novatrice dans sa simplicité qui fut la recherche systématique par C. Nüsslein-Volhard et E. Wieschaus de mutations à effet maternel ou zygotique altérant le diagramme de segmentation de l'embryon, la seconde est l'étude des gènes homéotiques dont le pionnier inspiré fut E.B. Lewis [1].

De l'ensemble des résultats obtenus émerge le premier cadre conceptuel décrivant les principes sous-jacents à la mise en place progressive du plan d'organisation corporelle d'un organisme eucaryote au cours de la formation de l'œuf et des premières étapes du développement embryonnaire [2]. Ce modèle intègre de fait une surprenante intrication de mécanismes dont la compréhension au niveau moléculaire progresse rapidement. En bref, quatre systèmes indépendants de gènes maternels déterminent conjointement au cours de l'ovogenèse l'organisation et la polarité des deux axes majeurs, antéro-postérieur et dorso-ventral, du futur embryon par l'intermédiaire de la localisation précise dans l'œuf de signaux de position ([3] et article d'E. Mohier p. 654 de ce numéro). Le décodage et la trans-

duction de ces signaux au début du développement zygotique conditionne l'expression strictement hiérarchisée et spatialement ordonnée des gènes de segmentation *gap* et *pair rule* codant pour des facteurs de transcription. La combinatoire de ces facteurs aboutit à une subdivision progressive de l'embryon dans ses unités de base constitutives que sont les parasegments [1, 2]. L'organisation spatiale au sein des parasegments est sous le contrôle d'au moins une quinzaine de gènes dits de polarité segmentaire et l'identité individuelle des parasegments est déterminée par les huit gènes homéotiques (HOM) regroupés dans deux grands complexes *Antennapedia* (*ANT-C*) et *Bithorax* (*BX-C*).

Au-delà de leur intérêt fondamental ces résultats ont conforté deux convictions.

L'une est que le modèle drosophile offre la possibilité de disséquer séparément les différentes étapes qui attribuent un destin précis aux cellules dérivant du zygote et conditionnent ainsi l'émergence de la diversité des types cellulaires et l'élaboration des plans complexes d'organisation de l'embryon. L'outil principal pour y parvenir demeure la génétique. Grâce à l'analyse du phénotype des mutations induites dans un gène, elle permet d'en déterminer le rôle et la position précise dans un processus complexe de développement. L'obtention de mutations secondaires, non liées, de suppression ou d'aggravation du phénotype mutant fournit un moyen particulièrement puissant et de plus en plus largement employé pour identifier les interactions d'autres gènes partenaires dans ce processus. La génétique de *D. melanogaster* est parvenue à un haut degré de sophistication au fil des 80 années écoulées depuis l'isolement des premiers mutants spontanés par T.H. Morgan. Ont été ainsi élaborées les cartes génétiques et cytogénétiques les

 ADRESSE

J.-A. Lepesant : Institut Jacques-Monod, Cnrs et Université Paris VII, 2, place Jussieu, 75251 Paris Cedex 05, France.

mieux connues de tous les organismes complexes qui devraient être complétées dans un avenir proche par une carte physique du génome cloné dans des banques de YAC (*yeast artificial chromosomes*) de cosmides ou de bactériophage P1 [4]. L'étude des propriétés d'un transposon, l'élément P, et la maîtrise génétique de sa mobilité ont permis de compléter la panoplie des outils de l'approche classique. Ainsi la mutagenèse par insertion d'un élément P fournit une alternative à la mutagenèse classique par des agents chimiques ou physiques et offre en outre la possibilité d'isoler, sans hypothèse préalable sur leur phénotype, des mutations dans des gènes identifiés grâce à des cribles moléculaires (voir la mini-synthèse de L. Ségalat et J.-A. Lepesant p. 714 de ce numéro). Un système de transformation de la lignée germinale, fondé sur l'utilisation des séquences de P comme vecteur, permet d'établir aisément des lignées transgéniques contenant des fragments d'ADN exogène pouvant atteindre plusieurs dizaines de kilobases. Une amélioration de ce système, découlant des travaux actuels de l'équipe d'Engels sur le mécanisme de transposition ([5] et *m/s* n° 9, vol. 7, p. 967) pourrait être la mise au point du système de recombinaison homologue qui fait encore défaut chez la drosophile. Enfin l'utilisation du gène *lacZ* d'*E. coli* placé comme un gène indicateur sous le contrôle du promoteur faible et constitutif de l'élément P a conduit à élaborer un système très sensible de détection des éléments de régulation de type *enhancer*. Une voie nouvelle, qui s'est rapidement révélée extrêmement fructueuse, a été ainsi ouverte en rendant possible l'identification de nouveaux gènes sur la seule base de la révélation de leur profil spatial ou temporel d'expression [6].

La seconde conviction est que les résultats obtenus avec la drosophile fournissent des clés pour déchiffrer des mécanismes analogues qui doivent opérer chez d'autres organismes, en particulier les vertébrés, dont la mise en place initiale du plan d'organisation de l'embryon est pourtant gouvernée par des principes très différents. La découverte du domaine « homéo », premier motif protéique de liaison à l'ADN mis en évidence

chez la drosophile dans les gènes des *ANT-C* et *BX-C* et rapidement retrouvé chez un grand nombre d'autres organismes, a puissamment contribué à étayer cette conviction. Son impact a été considérable. Elle a ouvert une voie entièrement nouvelle dans la génétique moléculaire du développement des vertébrés en conduisant à l'identification de quatre complexes HOX d'homéogènes dont l'existence était insoupçonnée auparavant [7]. Les complexes HOX présentent une remarquable similitude d'organisation et d'expression spatiale avec les complexes HOM de drosophile. Les preuves expérimentales de leur rôle direct dans l'élaboration du plan d'organisation de l'embryon de mammifère selon l'axe rostro-caudal et dans la morphogenèse des membres s'accroissent rapidement ([8, 9] et *m/s* n° 10, vol. 7, p. 1011). Il apparaît ainsi bien établi que les arthropodes et les vertébrés ont en commun un système génétique de spécification de coordonnées spatiales de l'organisme selon l'axe antéro-postérieur dont certaines caractéristiques essentielles ont été conservées au travers de plus de 600 millions d'années d'évolution [7].

L'analyse succincte de quelques contributions récentes dans la continuité des travaux résumés ci-dessus fournit d'autres exemples de l'intérêt au plan général du modèle drosophile pour la compréhension des mécanismes de la détermination cellulaire.

L'un est l'étude du rôle joué par le gène *oskar* dans la formation des cellules polaires, précurseurs des cellules de la lignée germinale qui sont les premières à apparaître au pôle postérieur de l'embryon pendant sa phase de développement syncytial précédant le stade blastoderme. Des études génétiques et moléculaires avaient montré qu'*oskar* est un membre du groupe « postérieur » des gènes maternels responsables de la mise en place au cours de l'ovogenèse des déterminants de l'abdomen et de la lignée germinale (voir l'article d'E. Mohier p. 654 de ce numéro). A Ephrussi et R. Lehman [10] apportent la très élégante démonstration que le ciblage de l'ARN *oskar* au pôle antérieur de l'embryon est suffisant pour induire la formation de cellules polaires fonctionnelles et d'un abdomen en

cette position ectopique (voir aussi l'article de H. Denis et J.C. Lacroix, p. 695 de ce numéro). Cela a pu être réalisé grâce à une construction transgénique dans laquelle les séquences 3' non traduites (3'UTR) de l'ARN messager *oskar* ont été remplacées par le 3'UTR qui détermine la localisation spécifique au pôle antérieur de l'ARN messager du gène *bicoid*. Ce résultat remarquable marque une étape importante dans l'élucidation des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la détermination de la lignée germinale et dont la compréhension est encore très restreinte.

L'étude des gènes de polarité segmentaire fournit un exemple d'approche des mécanismes intervenant dans l'établissement d'identités distinctes parmi une population de cellules équivalentes. Une série de résultats convergents indiquent que le destin des cellules au sein des parasegments dépend autant des interactions prenant place entre cellules adjacentes que de leur lignage déterminé par la combinatoire des facteurs de transcription codés par les gènes *gap* et *pair rule*. Les gènes *wingless* (*wg*) et *engrailed* (*en*), exprimés de manière exclusive au niveau de deux bandes transversales et contiguës de cellules dans chaque parasegment, jouent un rôle central dans ce processus. L'expression de *wg* qui code pour une glycoprotéine sécrétée est requise pour maintenir dans les cellules immédiatement adjacentes en position postérieure l'expression du gène *en* codant pour un facteur de transcription à domaine « homéo ». En retour l'expression de *wg* est maintenue par un signal émanant des cellules exprimant *en* [11]. Cette interaction complexe *wg-en*, nécessaire à la définition des frontières des segments de l'insecte, représente sans doute la conservation d'un mécanisme universel de mise en place d'un plan d'organisation spatiale, *wg* est l'homologue du proto-oncogène *int-1/Wnt-1* qui fait partie d'une famille de gènes identifiés chez la souris et plusieurs autres espèces de vertébrés. De même, deux gènes homologues d'*en*. *En-1* et *En-2* ont été identifiés chez la souris. Dans l'embryon de souris *Wnt-1*, les gènes *En* sont exprimées de manière che-

vauchante dans un territoire marquant la jonction entre le cerveau moyen et postérieur. L'inactivation du gène *Wnt-1* par recombinaison homologue entraîne d'importantes délétions du cerveau moyen et du cervelet, corrélées à la perte de l'expression des gènes *En* [12]. Il semble donc particulièrement important de poursuivre l'élucidation du système complexe de signalisation intercellulaire dépendant de *wg*. Il apparaît déjà que la transduction et le décodage du signal *wg* met en jeu toute une série de gènes dont certains ont des homologues structuraux chez les vertébrés tels que le gène *armadillo* codant pour une protéine apparentée à la β -caténine et à la plakoglobine qui sont des composants des jonctions cellulaires et les gènes *fused*, *shaggy/zeste white 3* qui codent pour des sérine/thréonine kinases [11].

L'étude des gènes qui contrôlent l'expression des gènes homéotiques fournit un accès à un autre processus fondamental du développement qui est le maintien et la transmission au cours des divisions de l'état de détermination initiale reçu par une cellule. Des études génétiques ont montré que plus de 40 gènes appartenant au groupe *Polycomb* (*Pc-G*) sont impliqués dans le maintien des limites des différents domaines spatiaux d'expression des gènes homéotiques des complexes *ANT-C* et *BX-C* définis initialement par l'expression transitoire des gènes de segmentation. La fonction des gènes *Pc-G* est donc de maintenir la répression des gènes homéotiques dans les territoires où leur expression n'a pas été induite au stade blastoderme. Leur mutation entraîne la dérégulation uniforme de tous les gènes homéotiques dans l'ensemble des segments. Deux gènes du *Pc-G*, *Polycomb* (*Pc*) et *polyhomeotic* (*ph*) ont été particulièrement étudiés au niveau génétique et moléculaire. Les protéines *Pc* et *Ph* n'ont pas d'activité de liaison directe à l'ADN mais, de manière remarquable, elles se fixent exactement aux mêmes sites sur les chromosomes polytènes des glandes salivaires de la larve. La démonstration vient d'être apportée que ces deux protéines font partie, en association avec d'autres, d'un complexe multimérique de haut poids moléculaire [13]. Ceci apporte un fort

argument en faveur de l'idée que les protéines *Pc* et *Ph* pourraient, avec la participation d'autres protéines du *Pc-6* telles que le produit du gène *Posterior sexcombs* (*Psc*), compacter localement la chromatine dans des structures stables de type hétérochromatine limitant l'accès des facteurs de transcription à l'ADN. La transmission clonale de ces structures au cours de la multiplication cellulaire assurerait le maintien au cours du développement de la répression des gènes *HOM* dans les cellules appropriées. Le mécanisme exact de la compaction reste à élucider mais un motif de 48 acides aminés, le domaine « chromo », présent dans la protéine *Pc* et dans une autre protéine de l'hétérochromatine, *HP1*, apparaît absolument requis pour la liaison de *Pc* à la chromatine. Il serait maintenant particulièrement intéressant de savoir si ce mécanisme qui représente une véritable « mémoire moléculaire » de la détermination opère chez d'autres organismes pour assurer l'expression appropriée de gènes réglant le développement. La forte conservation phylogénétique des plantes à l'homme du domaine « chromo », et le fait qu'une protéine semblable à *Psc* soit présente chez la souris [13], constituent une forte présomption qu'il pourrait bien en être ainsi.

Ces exemples ne sont pas limitatifs et l'intérêt au plan général de la drosophile ne se restreint pas à l'étude du développement embryonnaire précoc. Il est également un domaine, la neurogenèse, qui fournit un vaste champ d'investigation des mécanismes moléculaires et cellulaires qui conditionnent les choix opérés par les cellules pour adopter un destin particulier [14]. Cela représente pour le modèle drosophile une nouvelle « frontière » dont l'exploration largement entamée devrait continuer à stimuler la créativité de plusieurs générations de drosophilistes... et retenir à nouveau l'attention aiguë des autres biologistes. Il m'apparaît en effet possible d'affirmer, sans faire un pari trop présomptueux, qu'elle devrait contribuer de manière décisive à élucider quelques-uns des principes d'organisation et de fonctionnement de la structure biologique la plus complexe que représente le système nerveux central ■

RÉFÉRENCES

1. Lawrence P. *The making of a fly*. Oxford : Blackwell Scientific Publications, 1992 : 228 p.
2. Ingham PW. The molecular genetics of embryonic pattern formation in *Drosophila*. *Nature* 1988, 335 : 25-34.
3. St Johnston D, Nüsslein-Volhard C. The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo. *Cell* 1992 ; 68 : 201-19.
4. Morriam J, Ashburner M, Harti DL, Kafatos FC. Toward cloning and mapping the genome of *Drosophila*. *Science* 1991 ; 254 : 221-5.
5. Gloor GB, Nassif NA, Johnson-Schlitz DM, Preston CR, Engels WR. Targeted gene replacement in *Drosophila* via P element-induced gap repair. *Science* 1991 ; 253 : 1110-7.
6. Freeman M, First, trap your enhancer. *Curr Biol* 1991 ; 1 : 378-81.
7. McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 1992 ; 68 : 283-302.
8. Mark M, Lufkin T, Dierich A, LeMeur M, Chambon P. Inactivation of the gene *Hox-1.6* chez la souris : vers le décodage des réseaux d'homéogènes de mammifères. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 334-9.
9. Le Mouellie H, Lallemand Y, Brûlet P. Transformations homéotiques chez la souris provoquées par l'inactivation de l'homéogène *Hox-3.1*. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 340-5.
10. Ephrussi A, Lehman R. Induction of germ cell formation by *oskar*. *Nature* 1992 ; 356 : 387-92.
11. Poifer M, Bejsovec A. Knowing your neighbors. Cell interactions determine intrasegmental patterning in *Drosophila*. *Trends Genet* 1992 ; 8 : 243-9.
12. Memahon AP, Joyner AL, Bradley A, Memahon JA. The midbrain-hindbrain phenotype of *Wnt-1/Wnt-1* mice results from stepwise deletion of engrailed-expressing cells by 9.5 days postcoltum. *Cell* 1992 ; 69 : 581-95.
13. Franke A, DeCamillis M, Zink D, Cheng N, Brock HW, Paro R. *Polycomb* and *polyhomeotic* are constituents of a multimeric protein complex in chromatin of *Drosophila melanogaster*. *EMBO J* 1992 ; 11 : 2941-50.
14. Artawanis-Tsakonas S, Simpson P. Choosing a cell fate. A view from the Notch locus. *Trends Genet* 1991 ; 7 : 403-8.

TIRÉS A PART

J.-A. Lepesant.

m/s n° 7, vol. 8, septembre 92